

UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY

FEB 1 '50

EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

EDITORES

A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE

BERN

ZÜRICH

GENÈVE

REDACTOR: H. MISLIN, BASEL

Vol. V · 1949

VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL

SUISSE · SCHWEIZ · SVIZZERA · SWITZERLAND

EXPERIENTIA



REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:

A.v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Bern Zürich Genève

Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

UNIVERSITY OF
LIBRARY

MAR 8 49

Vol. V - Fasc. 1

15. I. 1949

Fr. 2.50

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

K. MIESCHER: Les hormones œstrogènes, de leur découverte à leur synthèse totale	1
H.-J. BIELIG und F. Graf MEDEM: Wirkstoffe der tierischen Befruchtung	11
H. MARQUARDT: Die Schädigung des Zellkerns durch Röntgenbestrahlung	31

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

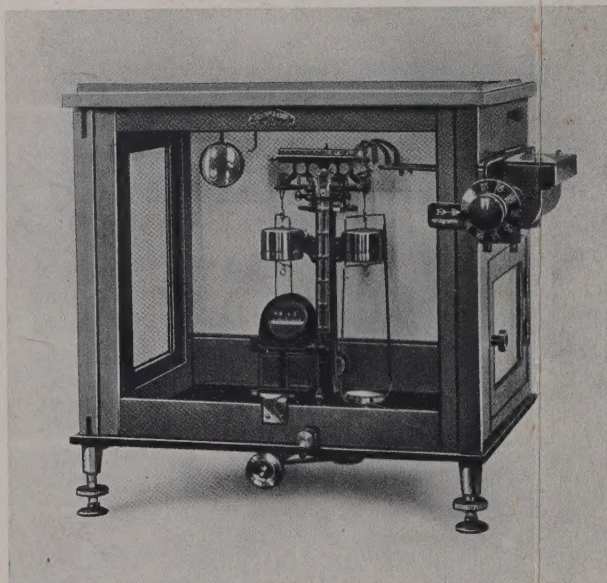
M. WALDMEIER: Tetrapolare Sonnenfleckengruppen	44
S. DIJKGRAAF: Lokalisationsversuche am Fischgehirn	44
P. DE NICOLA: Rapporti tra costituzione della protrombina e ipoprotrombinemie	45
H. J. BLUNTSCHLI und H. STAUB: Über die Bedeutung der Nierentätigkeit für die Blutdruckwirkungen eines dehydrierten Ergotderivats, Dihydroergocornin	46
B. CAGIANUT: Beitrag zur Wirkung von Deuteriumoxyd (D_2O) auf das Wachstum (Untersuchungen an Gewebeskulturen von Kaninchenfibrozyten)	48

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Differential- und Integralrechnung, Von L. Locher-Ernst (Verlag Birkhäuser, Basel 1948) (Ref. P. Buchner)	50
Introduction to Theoretical Physics. By L. Page (D. Van Nostrand & Co., Inc., New York, 1935) (Ref. D. Rivier)	51
Carotinoide. Von P. Karrer und E. Jucker (Verlag Birkhäuser, Basel 1948) (Ref. H. von Euler)	51
Volumetric Analysis. By I. M. Kolthoff und V. A. Stenger (Interscience Publishers, Inc., New York, 1947) (Ref. H. Süllmann)	52

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Congrès - Corrigendum	52
---------------------------------	----



Die Mikrochemie

gewinnt zusehends an Bedeutung in den verschiedensten Zweigen der Forschung. — Der Erfolg Ihrer Arbeiten hängt aber weitgehend von der Anwendung geeigneter Hilfsmittel ab. Eines davon ist die

mikroanalytische Waage

Wenn Sie vor der Anschaffung eines solchen Instrumentes stehen, versäumen Sie nicht, sich die

Original-Sartorius-«MDP4»

in Vorschlag bringen zu lassen. — Der Name «SARTORIUS» ist im Verlaufe der Jahrzehnte mit Recht zu einem Begriff für Analysenwaagen geworden.

Ich unterbreite Ihnen gerne detailliertes Angebot. Weitsichtige Dispositionen bieten Gewähr für prompte Lieferung.

CARL BITTMANN BASEL

Petersgraben 33 Telefon (061) 2 22 38, Postfach Basel 3

Verzeichnis der Inserenten — Liste des annonceurs — List of advertisers — *Experientia* V/1

Ciba AG., Basel	Carl Bittmann, Basel	Trüb Täuber & Co. AG., Zürich	E. Mettler, Küsnacht-Zeh.	Birkhäuser AG., Basel
Ciencia, Mexico	Steiner & Co., Basel	Huber & Cie. AG., Frauenfeld	Carl Kirchner AG., Bern	Spécia, Paris

EXPER.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 2.50. Abonnement pour un an fr. 24.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 28.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Luxemburg, Dänemark, Schweden, Norwegen, Finnland, Tschechoslowakei, Portugal und Marokko nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 24.—, im Ausland sFr. 28.—; die Einzelnummer kostet Fr. 2.50.

Insertionspreise: $\frac{1}{1}$ Seite Fr. 200.—, $\frac{1}{2}$ Seite Fr. 120.—, $\frac{1}{4}$ Seite Fr. 70.—. Inseratenannahme durch den Verlag.

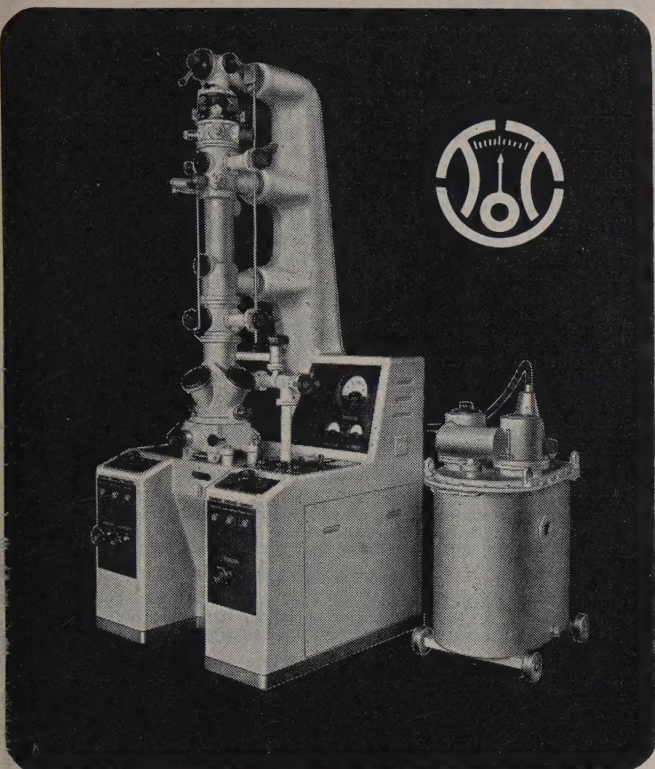
EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 2.50. L'abbonamento annuo è di fr. 24.— per la Svizzera; all'estero fr. 28.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 2.50, by annual subscription by inland-mail fr. 24.—; other countries fr. 28.—. Prices in Swiss currency.

Prices for advertising: $\frac{1}{1}$ page fr. 200.—, $\frac{1}{2}$ page fr. 120.—, $\frac{1}{4}$ page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

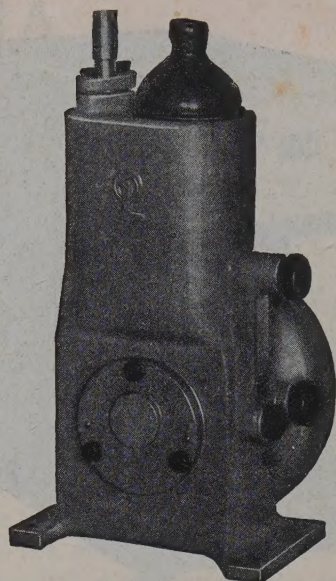
Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstrasse 15
Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

ELEKTRONENMIKROSKOPE



Trüb, Täuber & Co. AG.

Fabrik elektrischer Meßinstrumente und wissenschaftlicher Apparate, Zürich



Für Vakuumarbeiten

bei denen auch Dämpfe frei werden, verwendet
man mit großem Vorteil

Gasballastpumpen

Verlangen Sie Offerte

CARL KIRCHNER AG., BERN

Freiestraße 12

Telephon (031) 2 45 97

CIENCIA

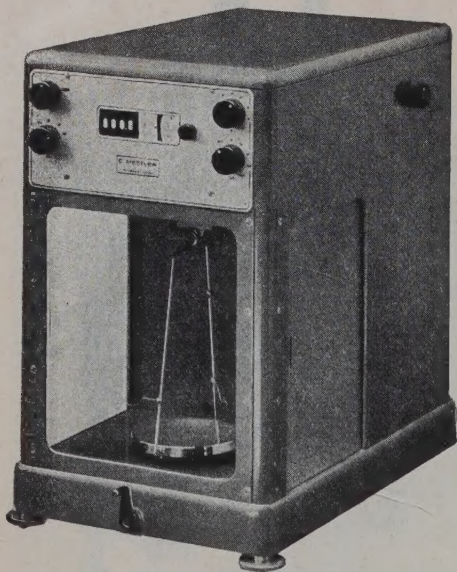
REVISTA HISPANO-AMERICANA DE CIENCIAS PURAS Y APLICADAS

REVUE HISPANO-AMÉRICAINNE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES

Directeur-fondateur: Prof. *Ignacio Bolívar*.

Directeur-édit.: Prof. *C. Bolívar Pieltatn*. Commission de publications: Prof. *F. Giral*,
Prof. *H. de Castro* et Prof. *B. F. Osorio Tafall*.

Revue publiée au Mexique, comprenant des travaux originaux, de brèves communications, des mises au point sur des problèmes scientifiques modernes, des referata de livres et de travaux, etc. — Prix de souscription: \$ 5.00. — La collection complète, de 8 volumes (1940-47) vaut \$ 50.00. Veuillez adresser les demandes de souscription au Directeur de «Ciencia», Apartado Postal 21033, México D. F.



METTLER Analysenwaagen

**Genau
Schnell
Sicher
Einfach**

Für sämtliche analytischen und
halbmikro-analytischen Arbeiten

E. METTLER Küsnacht-Zürich
Telephon (051) 34 05 53

Die Zeitschrift
für alle Bildungsbeflissenen und Lebenden

Prisma

Schweizerische Monatsschrift für
NATUR · FORSCHUNG · TECHNIK

*Diese populärwissenschaftliche Zeitschrift bringt
in ihren reichbebilderten Heften: Allgemeinver-
ständliche Deutungen des modernen Weltbildes -
Leichtfaßliche Darstellungen neuer Forschungs-
ergebnisse auf seriöser, wissenschaftlich einwand-
freier Grundlage - Interessante Schilderungen aus
allen Wissensgebieten - Umfassende Berichterstat-
tung über die Fortschritte der Technik - Aktuelle
Rundschau - Kurzberichte über neue Forschungs-
ergebnisse in der Rubrik «Spektrum».*

Einzelbest Fr. 1.90, Jahresabonnement Fr. 19.-
Ausland zuzüglich Porto

Verlangen Sie Bezugsquellennachweis vom Verlag
HUBER & CO. AG., FRAUENFELD (SCHWEIZ)

Bücher aus dem Verlag Birkhäuser

*Lehrbücher und Monographien
aus dem Gebiete der exakten Wissenschaft*

MATHEMATIK

ZWINGGL, E.: Versicherungsmathematik	27.—
FUTER, R.: Analytische Geometrie der Ebene und des Raumes	22.50
LINDER, A.: Statistische Methoden für Naturwissenschaftler, Medi- ziner und Ingenieure	18.50
OSTROWSKI, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrech- nung, Band 1, Funktionen einer Variablen	47.50
OSTROWSKI, A.: Vorlesungen über Differential- und Integralrech- nung, Band 2 und 3, Funktionen mehrerer Variablen	*
STIEFEL, A.: Lehrbuch der darstellenden Geometrie	28.50
CARATHÉODORY: Funktionentheorie	*

PHYSIK

REICHENBACH, H.: Philosoph. Grundlagen der Quantenmechanik	*
GOMBAS, P.: Theorie- und Lösungsmethoden des Mehrteilchenpro- blems der Wellenmechanik	*

CHEMIE

NIGGLI, P.: Grundlagen der Stereochemie	32.50
BRANDENBERGER, E.: Röntgenographisch-analytische Chemie	28.50
KARRER, P., und JUCKER, E.: Carotinoide	43.—

EXPERIMENTELLE BIOLOGIE

GÄUMANN, E.: Pflanzliche Infektionslehre	48.50
LEHMANN, F. E.: Einführung in die physiologische Embryologie	38.—
MURALT, A. VON: Die Signalübermittlung im Nerven	38.50
GÄUMANN, E.: Die Pilze, ihre Entwicklungsgesch. und Morphologie	*

MINERALOGIE

MOOS, A. VON, und QUERVAIN, F. DE: Technische Gesteinskunde	33.—
BRUCKHARDT, J. J.: Die Bewegungsgruppen der Kristallographie	29.—
NIGGLI, P., und NIGGLI, E.: Gesteine und Mineralagerstätten. Band I	46.—

ASTRONOMIE

PAHLEN, E. VON DER: Einführung in die Dynamik v. Sternsystemen	36.—
NIETHAMMER, TH.: Die genauen Methoden der astronomisch-geo- graphischen Ortsbestimmung	32.—
WALDMEIER, M.: Einführung in die Astrophysik	47.50

Lehr- und Handbücher der Ingenieurwissenschaften

STÜSSL, F.: Vorlesungen über Baustatik	38.50
MEISSNER, E., und ZIEGLER, H.: Mechanik, Band 1, Statik	36.—
MEISSNER, E., und ZIEGLER, H.: Mechanik, Band 2, Dynamik	32.50
JAEGER, CH.: Technische Hydraulik	*
KUHLMANN, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 1	*
KUHLMANN, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 2	26.50
KUHLMANN, K.: Theoretische Elektrotechnik, Band 3	*
RUSTERHOLZ, A.: Elektronenoptik	*

Wissenschaft und Kultur

SPEISER, A.: Die mathematische Denkweise	14.50
FIERZ-DAVID, H. E.: Die Entwicklungsgeschichte der Chemie	21.50
GAMOW, G.: Geburt und Tod der Sonne	24.50
STRAUB, H.: Die Geschichte der Bauingenieurkunst	*
NIGGLI, P.: Probleme der Naturwissenschaften	*

Industrie und Technik

FIERZ-DAVID, H. E., und MERIAN, E.: Abriß der chemischen Techno- logie der Textilfasern	36.50
COHEN, A.: Rationelle Metallanalyse	46.—
STÄGER, H.: Allgemeine Werkstoffkunde	46.50
SCHMID, E. V.: Ins Innere von Kunststoffen, Kunstharzen und Kau- tschuken	*
MOSER, A.: Der Dampfbetrieb der schweiz. Eisenbahnen 1847—1947	30.—
BODEA, E.: Giorgis rationales MKS-Maßsystem mit Dimensionsko- härenz	24.50

Neueste Fortschritte und Verfahren in der chemischen Technologie der Textilfasern

DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 1	68.—
DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 2	78.—
DISERENS, L.: Die neuesten Fortschritte in der Anwendung der Farbstoffe, Band 3	*
DISERENS, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Ver- edlung der Textilfasern, Band 1	87.50
DISERENS, L.: Neue Verfahren in der Technik der chemischen Ver- edlung der Textilfasern, Band 2	*

Einzelwerke

LOCHER-ERNST, L.: Differential- und Integralrechnung im Hinblick auf ihre Anwendung	48.—
HURWITZ, A.: Mathematische Werke Band 1: Funktionentheorie	44.—
Band 2: Zahlentheorie, Algebra, Geometrie	44.—
SCHLÄFLI, L.: Gesammelte mathematische Abhandlungen	*
THOMMEN, E.: Taschenatlas der Schweizer Flora	12.50
KALMUS, H.: Einfache Versuche an Insekten	*

* In Vorbereitung — * En préparation

Verlangen Sie unsern neuen Verlagskatalog vom Oktober 1948
und Spezialprospekte der einzelnen Werke

Verlag Birkhäuser AG., Basel

Sämtliche Bücher können durch die Buchhandlungen bezogen werden

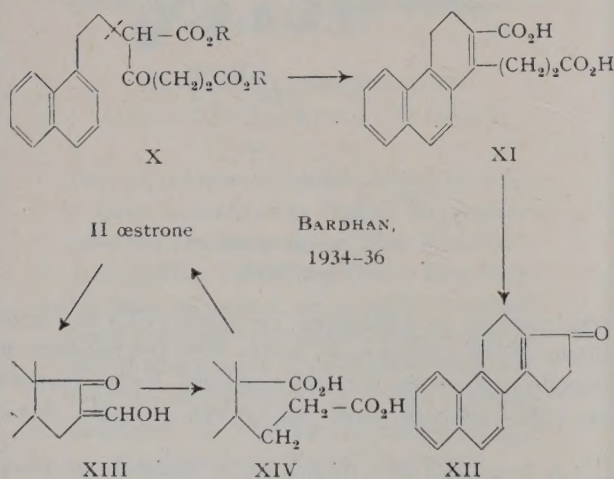
œstradiol (IX) que SCHWENK et HILDEBRANDT¹ avaient, deux ans plus tôt déjà, obtenu par hydrogénation catalytique de l'œstrone et qui est l'œstrogène naturel le plus puissant. D'après des travaux récents de l'école zurichoise de RUZICKA² l'hydroxyle 17 se situe très probablement en β et par conséquent en position *cis* par rapport au groupe méthyle voisin. Cela peut paraître surprenant, étant données ses propriétés «transoïdes», mais s'accorde avec les vues que nous formulions en 1940³, aux termes desquelles un substituant cyclique (C_{12} par exemple) peut exercer, de par son poids plus grand, une influence plus forte que le groupe méthyle sur la réactivité de l'hydroxyle.

Dès 1933, sitôt établie la constitution des hormones œstrogènes, on s'attaquait à leur synthèse. Ce ne fut qu'après deux périodes d'à peu près sept à huit ans, que les efforts déployés devaient enfin aboutir à leur couronnement, la synthèse totale de l'œstrone.

I. — Première période 1933—1940.

A. — Premiers essais de synthèse

Dans le courant de la première période déjà, des travaux importants, dont nous ne mentionnerons que les plus intéressants, sortaient de nombreux laboratoires. En 1934, BARDHAN⁴, un Hindou, obtenait pour la première fois une cétone qui présentait le système cyclique des hormones œstrogènes, la nor-désoxy-déshydro-équilénine (XII), en condensant le β -bromo-éthyl-naphtalène-(1) avec l'ester β -cétio-adipique. En cyclisant le nouveau cétio-ester X il arrivait à un diacide phénanthrénique XI et fermait l'anneau pentagonal en chauffant avec de l'anhydride acétique. Il montrait aussi⁵, en 1936, qu'en oxydant le dérivé α -oxyméthylénique (XIII) de l'œstrone (II), on obtient



¹ E. SCHWENK et F. HILDEBRANDT, *Naturw.* 21, 177 (1933).

² M. W. GOLDBERG, J. SICÉ, H. ROBERT et PL. PLATTNER, *Helv. chim. acta* 30, 1441 (1947).

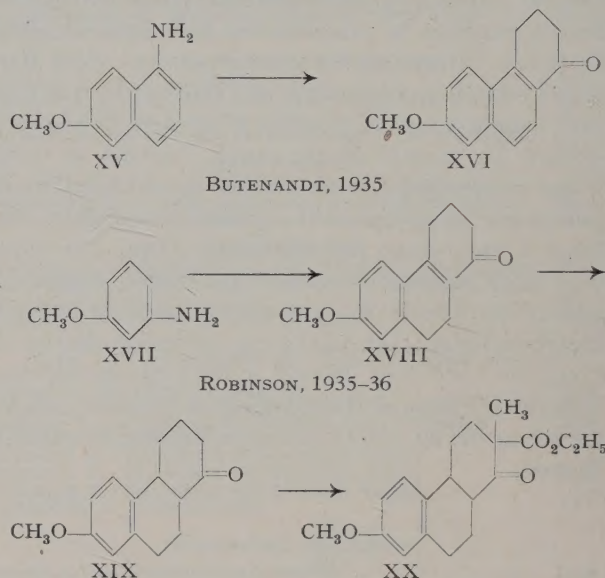
³ K. MIESCHER et W. H. FISCHER, *Helv. chim. acta* 23, 401 (1940).

⁴ J. C. BARDHAN, *Nature* 134, 217 (1934); *J. Chem. Soc. London* 1936, 1848.

⁵ J. C. BARDHAN, *J. Chem. Soc. London* 1936, 1848.

un acide homo-marrianolique (XIV) qu'on peut également recycliser en œstrone (II) par l'anhydride acétique.

En 1935, BUTENANDT¹ avec une cétone phénanthrolique tétrahydrogénée (XVI) préparée à partir de l'acide de CLÈVE (XV) et l'année suivante ROBINSON² avec des cétones hexa- et octahydrogénées (XVIII et XIX) et le cétio-ester correspondant (XX), préparés à partir de la m-anisidine (XVII), jetaient les bases de synthèses nouvelles. C'est ainsi que ROBINSON³ se servait en 1938, sans succès il est vrai, de ce cétio-ester pour entreprendre pour la première fois la synthèse totale



de l'œstrone. Par contre, il décrivait la synthèse d'une x-nor-équilénine⁴ et en 1939 celle d'une x-nor-œstrone⁵, deux corps dépourvus du groupe méthylène angulaire et de configuration inconnue.

B. — Synthèse totale de l'équilénine

Avec la synthèse totale de l'équilénine (VIII), BACHMANN⁶, un savant américain d'origine suisse, accusait un premier grand succès. Commenant à la cétone de BUTENANDT (XVI) et suivant l'exemple de ROBINSON, il édifiait le cycle pentagonal porteur du groupe cétonique en une série d'étapes qui passaient par un acide bisdeshydro-marrianolique (XXI) et par l'homo-acide correspondant (XXII). L'équilénine possède 2 centres d'asymétrie, en C_{13} et C_{14} . BACHMANN prépara les 2 racémiques et les 4 isomères optiquement actifs prévus par la théorie. Un seul d'entre eux, iden-

¹ A. BUTENANDT et G. SCHRAMM, *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 68, 2083 (1935).

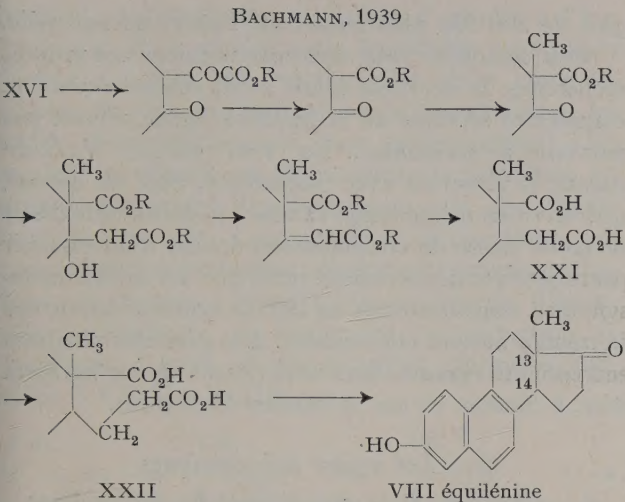
² R. ROBINSON et J. WALKER, *J. Chem. Soc. London* 1936, 747.

³ R. ROBINSON et J. WALKER, *J. Chem. Soc. London* 1938, 183.

⁴ A. KOEBNER et R. ROBINSON, *J. Chem. Soc. London* 1938, 1994.

⁵ R. ROBINSON et K. N. RYDON, *J. Chem. Soc. London* 1939, 1394.

⁶ W. E. BACHMANN et ses collaborateurs, *J. Amer. Chem. Soc.* 61, 974 (1939); 62, 824 (1940).

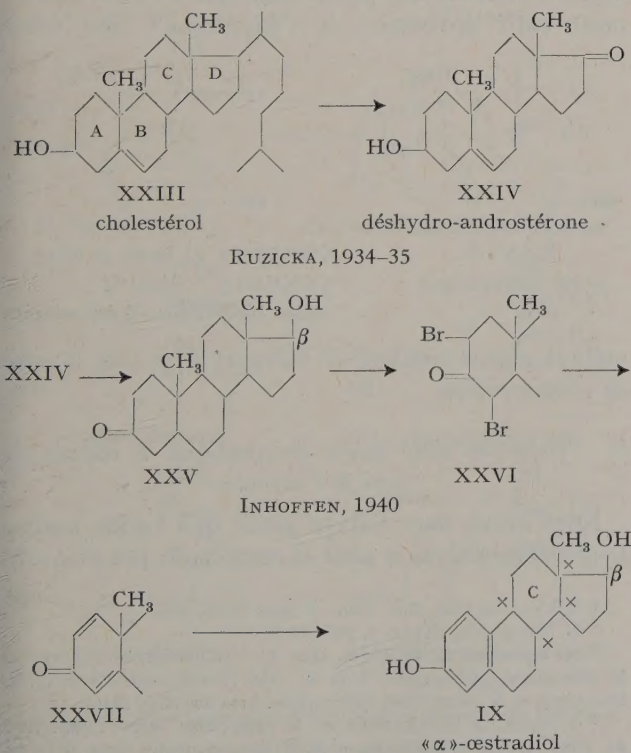


tique à l'hormone naturelle droite, fit preuve, avec un seuil de 30 γ, d'une activité œstrogène appréciable sur le rat.

C. — Synthèse partielle de l'œstradiol

Comme l'œstrone compte quatre centres d'asymétrie et l'œstradiol cinq, une synthèse partielle utilisant des produits naturels apparentés offrait évidemment le plus de chances de succès.

La déshydro-androstérone (XXIV) issue du cholestérol (XXIII) par dégradation chromique d'après la méthode classique de Ruzicka¹ était déjà devenue un produit de première importance industrielle pour la



¹ L. Ruzicka, M. W. Goldberg et H. Brüngger, *Helv. chim. acta* 17, 1389 (1934). — L. Ruzicka et A. Wettstein, *Helv. chim. acta* 18, 1264 (1935).

fabrication de la testostérone et de la progestérone et était tout indiquée pour aborder la synthèse partielle des hormones œstrogènes.

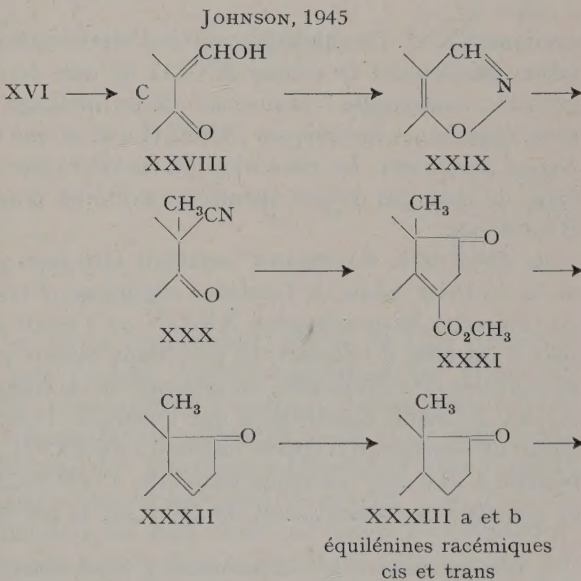
L'aromatisation de l'anneau A des stéroïdes fut élégamment résolue en 1940 par Inhoffen¹. Sa synthèse de l'œstradiol naturel passait de la déshydro-androstérone (XXIV) à l'androstanol-17β-one-3 (XXV) et, par le dibromure XXVI, à la Δ^{1,4}-androstadiénolone (XXVII). La déméthylation de XXVII à haute température (500-600°) conduisait à l'hormone elle-même. Ceci prouvait en même temps que l'ordonnance stérique des quatre centres d'asymétrie de l'œstrone et de l'œstradiol groupés autour du noyau C concorde avec celle des stérols et des autres hormones stéroïdes.

Parmi les essais qui remontent à cette époque de synthèse partielle, mentionnons encore ceux de Remesow² et de Marker³ qui partirent du néo-ergostérol et surtout celui de Marker⁴ qui veut avoir obtenu de l'œstrone ou de l'œstradiol en réduisant l'équilénine ou la dihydro-équilénine par le sodium dans l'alcool amylique, résultat que ne purent confirmer d'autres auteurs⁵.

II.—Seconde période 1941—1948

A. — Travaux divers

Dès lors, et nous entrons maintenant dans la seconde période de huit ans, on redoubla d'efforts dans le domaine de la synthèse.



¹ H. H. Inhoffen, *Angew. Ch.* 53, 471 (1940). — H. H. Inhoffen et G. Zühlsdorff, *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 74, 1991 (1941). — H. H. Inhoffen, *Angew. Ch.* 59, 207 (1947).

² J. Remesow, *Rec. Trav. chim. Pays-Bas* 55, 797 (1936); 56, 1093 (1936).

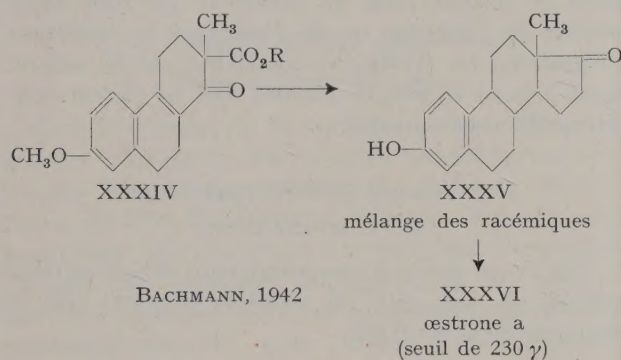
³ R. E. Marker, O. Kamm, Th. S. Oakwood et J. F. Lancius, *J. Amer. Chem. Soc.* 58, 1503 (1936).

⁴ R. E. Marker, *J. Amer. Chem. Soc.* 60, 1897 (1938).

⁵ A. Windaus et M. Deppe, *Ber. Dtsch. chem. Ges.* 70, 76 (1937). — L. Ruzicka, P. Müller et E. Mörgeli, *Helv. chim. acta* 21, 1394 (1938).

De 1940 à 1942 BACHMANN¹ décrivait une série d'homologues et d'analogues de l'équilénine. En 1943, il refaisait par une voie différente² la synthèse de la nor-équilénine de ROBINSON. Ce dernier, l'année suivante, reprenant ses essais de 1941³, réussissait à introduire le groupe méthyle angulaire en bloquant momentanément le chaînon méthylénique voisin du carbonyl⁴. Il n'obtenait malheureusement que l'iso-équilénine inefficace. Un autre procédé de méthylation était décrit en 1945 par JOHNSON⁵ qui la même année annonçait une deuxième et intéressante synthèse de l'équilénine⁶.

Tout comme BACHMANN, JOHNSON partait de la cétone XVI de BUTENANDT. De là il passait par le composé oxyméthylénique XXVIII et l'isoxazole XXIX à la cyano-cétone méthylée XXX qu'il condensait avec le succinate de méthyle (réaction de STOBBE) pour aboutir directement à l'ester cétonique



cyclique XXXI. Une hydrolyse suivie d'une décarboxylation lui donnait la cétone XXXII qu'une hydrogénation catalytique transformait en un mélange des deux équilélines racémiques (XXXIII a et b) que l'on sépare facilement. La résolution du diastéreo-isomère trans se fait par l'ester menthoxy-acétique d'après BACHMANN.

En 1942 déjà, BACHMANN⁷ semblait être bien près de la synthèse totale de l'œstrone elle-même. Partant du céto-ester hexahydrogéné XXXIV qu'il avait préparé à cet effet il obtenait, en procédant comme pour sa synthèse de l'équilénine, un mélange de racémiques XXXV de même constitution que l'œstrone. Il en séparait un isomère qu'il appela œstrone a (XXXVI), qui fondait à 214–215° (œstrone naturelle, F 254,5–256°) et qui avec une valeur-seuil de 230 γ sur le rat était

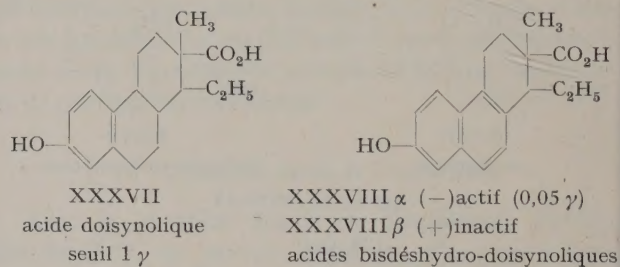
plus de 200 fois plus faible que l'hormone naturelle.

Ainsi, lorsqu'en 1943 nous entreprenions nos propres recherches, la synthèse totale avait échoué devant la complexité stérique de la molécule qu'on n'était pas parvenu à surmonter. En 1947 encore, VELLUZ¹ jugeait la situation avec pessimisme. Seul un détour, qui ouvrit en même temps la voie à la découverte d'une nouvelle classe de combinaisons douées d'un pouvoir œstrogène particulièrement prononcé, les acides doisynoliques, nous conduisit au but, la synthèse totale des hormones natives elles-mêmes. Nos premiers résultats ont déjà été exposés dans cette revue². Je me bornerai donc à résumer ici nos recherches ultérieures.

B.—Les acides doisynoliques

a) — Les acides de la série bisdés-hydro-doisynolique

Nous avons pu prouver en 1944³ que l'acide IV de DOISY, dérivant de l'œstrone par fusion alcaline et qui témoignait d'une forte activité œstrogène sur le rat châtré, correspondait à la formule $C_{18}H_{24}O_3$ (XXXVII). Nous l'avons nommé acide doisynolique. La fusion alcaline de l'équilénine mène à deux acides, les acides bisdés-hydro-doisynoliques (XXXVIII α et β), dont l'un, l'acide (–) α est fortement actif et l'autre, l'acide (+) β , inactif. Nous avons fait la synthèse des deux racémiques de l'acide bisdés-hydro-doisynolique qui correspondent aux deux équilélines racémiques, par deux méthodes différentes⁴. JOHNSON⁵ vient d'en décrire une troisième. L'antipode lévogyre du racémique α était en tous points identique à l'acide hautement actif provenant de l'équilénine⁶. Son éther



méthyle est employé en thérapeutique sous le nom de «Fénocycline».

b) — Relations entre acides doisynoliques et cétones du type de l'œstrone

Nous avons tout d'abord pensé que l'acide bisdés-hydro-doisynolique α actif se rattachait, par sa confi-

¹ W. E. BACHMANN et ses collaborateurs, J. Amer. Chem. Soc. 62, 2084, 2750 (1940); 63, 595, 598, 2292 (1941); 64, 94, 536 (1942).

² W. E. BACHMANN, R. A. GREGG et E. F. PRATT, J. Amer. Chem. Soc. 65, 2314 (1943).

³ A. KOEBNER et R. ROBINSON, J. Chem. Soc. London 1941, 566.

⁴ A. U. BIRCH, R. JAEGER et R. ROBINSON, J. Chem. Soc. London 1945, 582.

⁵ W. S. JOHNSON, J. W. PETERSON et C. D. GUTSCHE, J. Amer. Chem. Soc. 67, 2274 (1945).

⁶ W. S. JOHNSON, J. W. PETERSON et C. D. GUTSCHE, J. Amer. Chem. Soc. 69, 2943 (1947).

⁷ W. E. BACHMANN, S. KUSHNER et A. C. STEVENSON, J. Amer. Chem. Soc. 64, 974 (1942).

¹ C. VELLUZ, Bull. Soc. chim. France 1947, 569.

² K. MIESCHER, Exper. 2, 247 (1946).

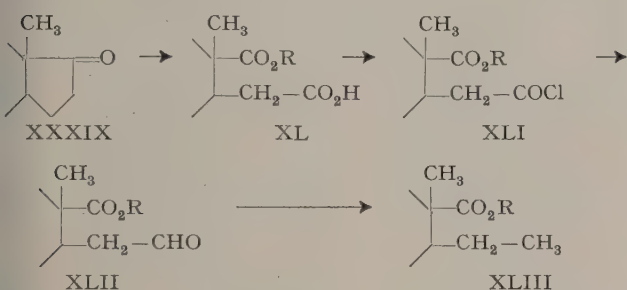
³ K. MIESCHER, Helv. chim. acta 27, 1727 (1944). — J. HEER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 28, 156 (1945). — J. HEER, J. R. BILLETER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 28, 991 (1945).

⁴ J. HEER, J. R. BILLETER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 28, 1342 (1945). — G. ANNER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 29, 586 (1946).

⁵ W. S. JOHNSON et R. P. GRABER, J. Amer. Chem. Soc. 70, 2612 (1948).

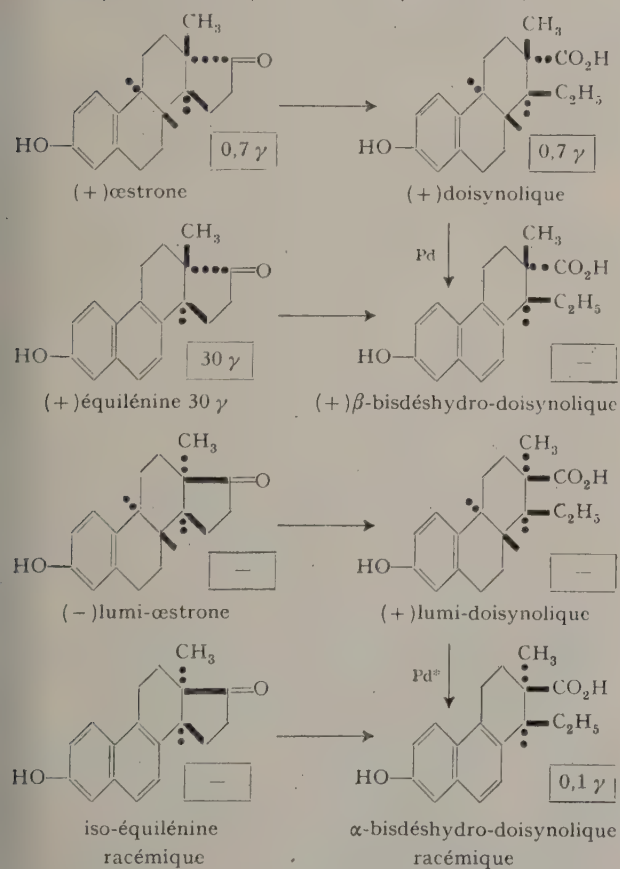
⁶ R. ROMETSCH et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 29, 1231 (1946).

guration, à l'équilénine et l'acide β inactif à l'iso-équilénine. Pour vérifier cette hypothèse nous avons cherché à établir une relation plus claire entre les cétones du type de l'œstrone ou de l'équilénine et les acides doisynoliques qui leur correspondent¹. En oxydant les cétones par l'hypo-iodite de potassium, on obtient des acides dicarboxyliques tels que l'acide marrianolique III. Leur fonction carboxylique primaire peut être facilement convertie en groupe méthylé par passage à l'ester acide, au chlorure d'acide, puis à l'aldéhyde, et finalement par réduction de l'aldéhyde d'après WOLFF-KISHNER (formules partielles XXXIX à XLIII).



cétones
(XLIV-XLVII)

acides
(XLVIII-LI)



* La déshydrogénation donne l'antipode(+)inactif de l'acide α .
[] seuil d'activité œstrogène sur le rat châtré.

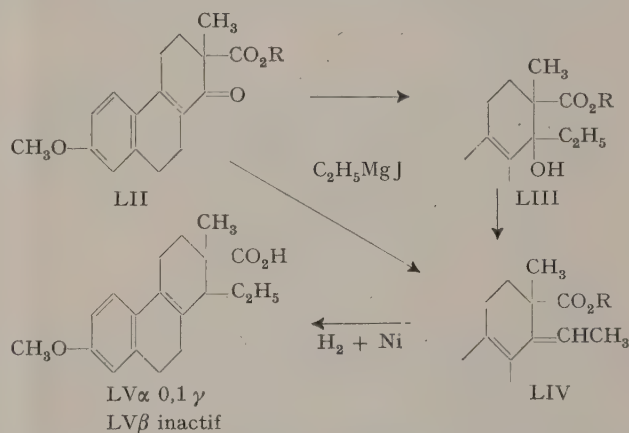
¹ J. HEER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 29, 1895 (1946); 31, 405 (1948).

Les formules XLIV à LI illustrent les relations que nous avons trouvées entre les cétones et les acides monocarboxyliques. Il en découle le fait remarquable que, à l'inverse de ce que nous avons supposé, l'acide α -bisdéshydro-doisynolique actif se rattache, par sa configuration, à l'iso-équilénine inactive, de telle sorte qu'on était en droit de se demander si les cycles C et D de l'équilénine ne présentent pas, contrairement à ceux de l'œstrone, la configuration cis. Mais, comme vient de le montrer SHOPPEE¹, il n'y a maintenant presque plus de doutes sur l'identité de configuration de ces deux œstrogènes.

Du reste, et ceci confirme nos données, nous avons pu ramener par déshydrogénation ménagée de leurs éther-esters² les acides (+)doisynolique (XLVIII) et (+)lumi-doisynolique (L) aux acides bisdéshydro-doisynoliques XLIX et LI correspondants. L'acide (+)lumi L dérive de la (-)lumi-œstrone XLVI, le produit d'irradiation de la (+)œstrone XLIV.

c) - Acides de la série monodéshydro-doisynolique

La synthèse des acides doisynoliques et de leurs dérivés monodéshydrogénés revêtait, en vue de celle de l'œstrone, une importance particulière. Leur préparation a suivi celle des acides bisdéshydrogénés.



LIV se forme directement, à côté de LIII lorsqu'on fait agir l'iodure d'éthyl-magnésium sur l'ester de l'acide céto-1-méthyl-2-méthoxy-7-hexahydro-1,2,3,4,9,10-phénanthrène-carboxylique-(2) (LII) déjà décrit par BACHMANN³. L'hydrogénation de LIV nous a donné⁴ les deux acides racémiques LV α et LV β . L'un d'eux, le racémique α , est aussi actif que l'acide α -bisdéshydro-doisynolique lui-même, auquel il peut être ramené par déshydrogénation ménagée. L'acide β par contre est

¹ C. W. SHOPPEE, Nature 160, 64 (1947); 161, 207 (1948); Steroids and Related Substances, Annual Reports on the Progress of Chemistry for 1947, p. 170. Nos travaux sur les acides doisynoliques y sont résumés d'une façon particulièrement heureuse.

² J. HEER et K. MIESCHER, Helv. chim. acta 30, 550 (1947).

³ W. E. BACHMANN, S. KUSHNER et A. C. STEVENSON, J. Amer. Chem. Soc. 64, 974 (1942).

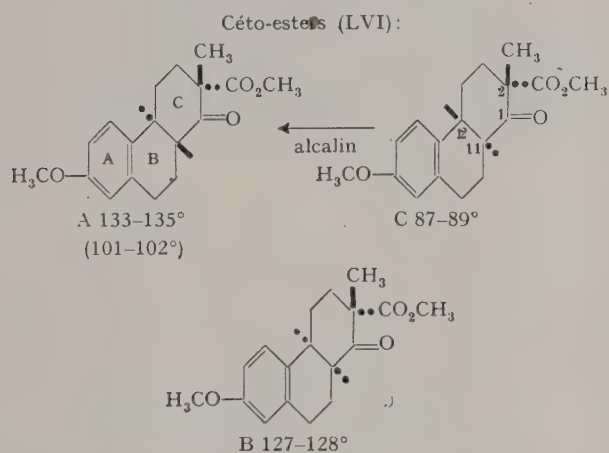
⁴ G. ANNER et K. MIESCHER, Exper. 2, 409 (1946); Helv. chim. acta 29, 1889 (1946).

inactif. Nous avons encore obtenu¹, en procédant comme pour LV α , un homologue inférieur, le dérivé méthyl-(1), que HOGG² vient de préparer par une méthode différente.

d) – Synthèse totale des acides doisynoliques

Nous avons tout récemment achevé la synthèse des acides doisynoliques de la série des octahydro-phénanthrènes³. La présence de quatre atomes de carbone asymétriques ordonnés autour du cycle C, ce qui fait huit acides racémiques, opposait un sérieux obstacle à leur préparation.

Nous sommes partis de l'ester de l'acide céto-1-méthyl-2-méthoxy-7-octahydro-phénanthrène-carboxylique-(2) (LVI) qui présente trois centres d'asymétrie. L'ester éthylique (XX), comme nous l'avons vu, avait été préparé par ROBINSON⁴ en 1936 et l'ester méthylique en 1943 par BACHMANN⁵, grâce à un procédé meilleur. Formés du mélange des racémiques, ces deux esters n'avaient été obtenus que sous forme d'huiles.



Nous avons, par cristallisation fractionnée, retiré de l'ester méthylique huileux trois des quatre racémiques possibles, A, B et C. Le céto-ester C se transforme en céto-ester A sous l'effet des alcalins, ce qui résulte certainement d'une inversion en C₁₁, en position α par rapport au groupe cétonique. A chacun de ces céto-esters racémiques correspondent théoriquement deux acides doisynoliques diastéréo-isomères α et β de synthèse (LVII). Les trois céto-esters A, B et C nous ont donné jusqu'à maintenant les cinq acides doisynoliques racémiques A α , A β , B α , C α et C β . Deux d'entre eux, A α et B α ont été également préparés par réduction au sodium et à l'alcool dans l'ammoniac liquide de l'acide α -monodéshydro-doisyndolique actif (LV α), pris sous forme de son éther-ester.

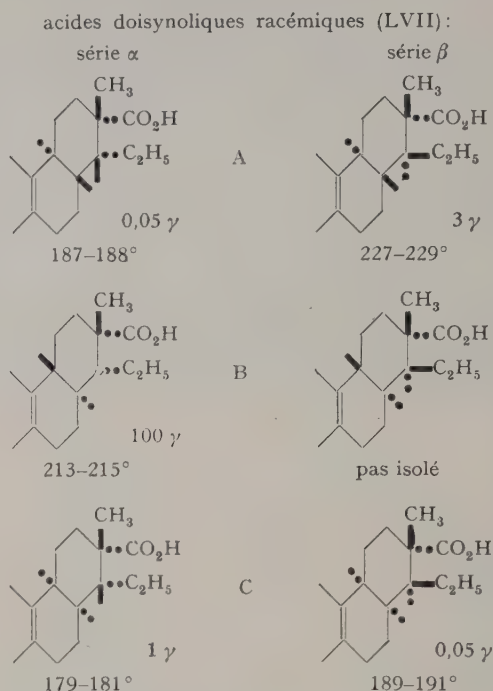
¹ J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 31, 1289 (1948).

² J. A. HOGG, *J. Amer. Chem. Soc.* 70, 161 (1948).

³ G. ANNER et K. MIESCHER, *Exper.* 3, 279 (1947); *Helv. chim. acta* 30, 1422 (1947).

⁴ R. ROBINSON et J. WALKER, *J. Chem. Soc. London* 1936, 747.

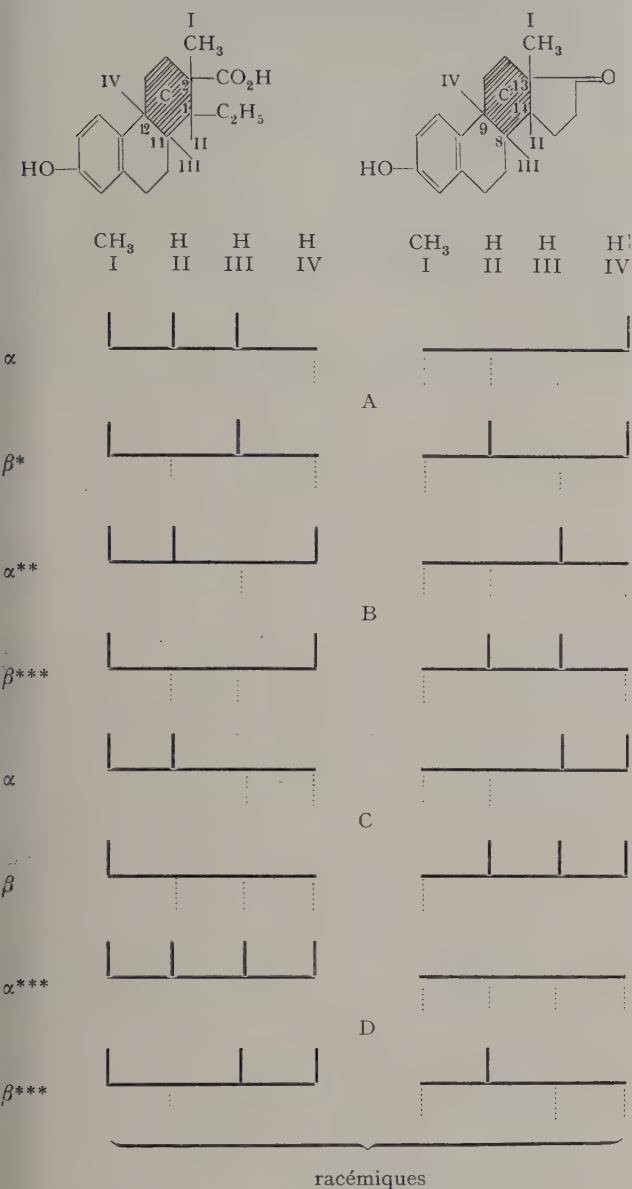
⁵ W. E. BACHMANN, S. KUSHNER et A. C. STEVENSON, *J. Amer. Chem. Soc.* 64, 974 (1942).



La déshydrogénation ménagée des éther-esters des acides de la série α conduit à l'acide α -bisdéshydro-doisyndolique hautement actif et celle des acides de la série β à l'acide β -bisdéshydro-doisyndolique inactif. L'acide A β est le racémique de l'acide (+)doisyndolique dérivé de l'œstrone naturelle et l'acide B α probablement celui de l'acide (+)lumi-doisyndolique.

L'acide B α est presque inactif, tandis que dans les deux séries A et C, contrairement à ce que nous avons trouvé dans la série bisdéshydrogénée, les deux racémiques α et β sont actifs. Dans la série A c'est le dérivé α , dont les groupes carboxyle et éthyle sont en position cis, qui surpasse, et de beaucoup, le dérivé «naturel» et l'œstrone elle-même en effet œstrogène, tandis que dans la série C, c'est le dérivé trans (C β) qui l'emporte sur le dérivé cis (C α). Comme les relations de configuration entre les différents acides doisynoliques coïncident avec celles des différentes œstrones isomères, nous donnons dans le tableau suivant un schéma de toutes leurs formes possibles, en considérant les quatre centres d'asymétrie ordonnés autour du noyau C. Le groupe méthyle lié à C₂ (acides doisynoliques) ou C₁₃ (œstrone) et les atomes d'hydrogène liés à C₁, C₁₁ et C₁₂ (acides doisynoliques) ou C₁₄, C₈ et C₉ (œstrones) sont numérotés de I à IV. L'anneau C, projeté sur un plan perpendiculaire au sien, est représenté par une droite horizontale. Les substituants situés en position β , (au-dessus du plan de C) sont figurés par des lignes verticales pleines élevées sur la projection de C et les substituants situés en position α (au-dessous du plan de C) par des lignes pointillées abaissées de cette même projection. Remarquons enfin que pour atteindre, dans la série des acides doisynoliques, à une activité appréciable, l'atome d'hydrogène lié en C₁₂

Relations stériques entre acides doisynoliques et œstrones



* Acide doisynolique et œstrone naturels.

** Acide lumi-doisynolique et lumi-œstrone (?).

*** Acides doisynoliques inconnus.

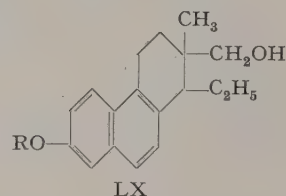
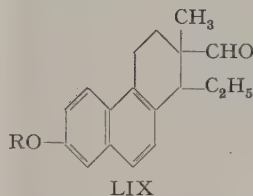
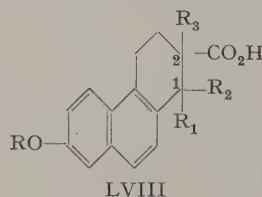
et le groupe méthyle lié en C_2 doivent, comme dans l'œstrone, s'opposer en trans, mais que l'on ne parvient à l'activité maximale que lorsque les atomes d'hydrogène fixés en position 1 et 11 sont en cis. Les acides $D\alpha$, $D\beta$ et $B\beta$ encore inconnus sont probablement inactifs ou peu actifs, comme l'acide $B\alpha$.

Notre schéma¹ est naturellement aussi valable pour illustrer la configuration des esters cétoniques où le centre d'asymétrie II est supprimé ainsi que celle des acides bisdés-hydro-doisynoliques ou des équilénines où les deux centres III et IV sont supprimés.

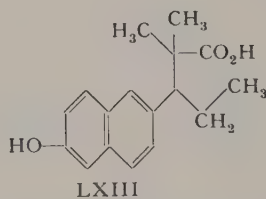
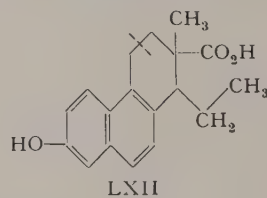
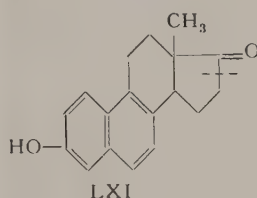
¹ Nous avons montré un schéma analogue au Congrès de chimie pure et appliquée à Londres en 1947.

e) - Homologues et analogues

Au cours des études étendues que nous avons poursuivies pour préciser l'influence des substituants sur l'activité œstrogène, nous avons préparé et étudié de nombreux dérivés, analogues et homologues de l'acide α -bis-dés-hydro-doisynolique (XXXVIII α) surtout¹. Je ne puis malheureusement pas entrer ici dans le détail de tous nos résultats. Relevons simplement que la présence simultanée de courtes chaînes alcoylées en C_1 et C_2 (LVIII) est déterminante pour l'efficacité de nos acides et que le groupe carboxyle de l'acide α -bisdés-hydro-doisynolique peut être remplacé par une fonction aldéhyde (LIX) ou alcool (LX) sans qu'il y ait perte sensible de pouvoir² œstrogène.



On peut se figurer les acides doisynoliques (LXII) comme formés par rupture du cycle D des hormones œstrogènes (LXI). Tout récemment, A. HOREAU³ à Paris, a préparé des acides hydroxy-6-naphtalène-

acide diméthyl- α , α -éthyl- β -allénolique

A. HOREAU, 1946

¹ J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 28, 1506 (1945). - J. R. BILLETER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 29, 859 (1946). - G. ANNER, J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 29, 1071 (1946). - L. EHMANN et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 413 (1947). - G. ANNER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 544 (1947). - J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 786 (1947).

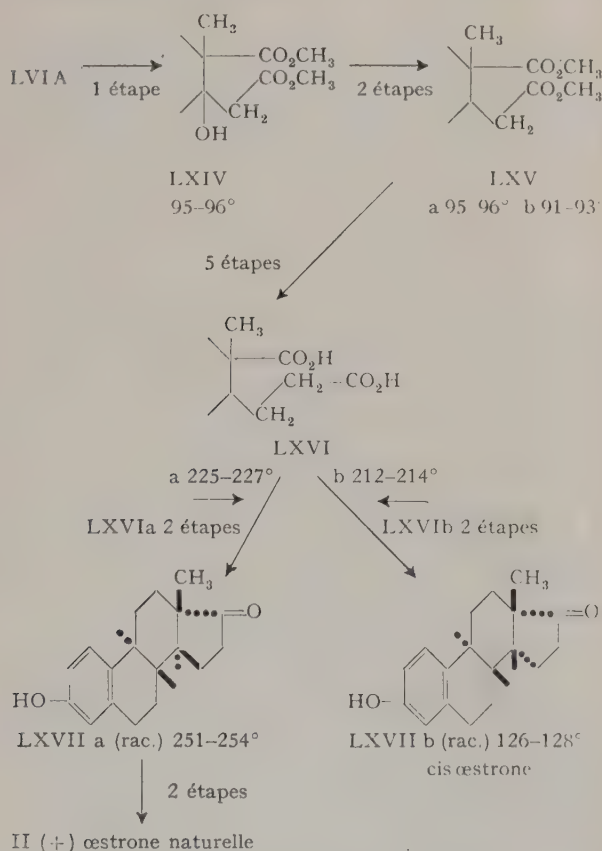
² J. HEER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 30, 778 (1947).

³ A. HOREAU et J. JACQUES, *C. r. Acad. Sci. Paris* 222, 1113 (1946). - R. COURRIER, A. HOREAU et J. JACQUES, *C. r. Soc. Biol.* 141, 159 (1947). - J. JACQUES et A. HOREAU, *Bull. Soc. chim. France* 1948, 711.

propioniques-(2) dialcoylés en position α et mono-alcoylés en position β par rapport au groupe carboxyle. Ces acides qu'il a dénommés acides α, α -dialcoyl- β -alcoyl-allénoliques correspondent à un acide bis-déshydro-doïsynolique dont le noyau C aurait été ouvert. Ils ont une action considérable sur le rat, celle de leur meilleur représentant atteignant environ un septième de l'efficacité de l'acide α -bis-déshydro-doïsynolique.

C. — La synthèse totale de l'œstrone

La préparation de céto-esters octahydro-phénanthroliques stériquement définis était la condition première de la synthèse totale des acides doïsynoliques du type de l'acide doïsynolique «naturel». Mais elle ouvrait du même coup la voie à celle de l'œstrone naturelle elle-même. Un mémoire préliminaire a paru au mois de janvier 1948¹ et une communication plus complète tout dernièrement². D'emblée le céto-ester méthylique LVIA nous parut le plus prometteur. ROBINSON et WALKER³ avaient déjà essayé, dans leurs tentatives d'édifier un cycle pentagonal, de condenser leur produit huileux avec l'ester bromacétique et le zinc, d'après REFORMATZKY, puis avaient saponifié le produit de condensation, l'avaient déshydraté mais n'avaient pas pu hydrogéner la double liaison ainsi formée.



Si l'on s'abstient de saponifier et part du céto-ester racémique LVIA stériquement homogène, on peut facilement obtenir par réaction de REFORMATZKY le diester hydroxylé (LXIV) à l'état pur. Une séparation d'eau suivie d'une hydrogénation nous donnait 2 esters marrianoliques (LXV) stériquement purs, dont l'un, l'ester a, à point de fusion légèrement plus élevé, correspondait au racémique du diester de l'acide dextrogyre (III) qui résulte de l'oxydation de l'œstrone. Par saponification partielle de LXVa, passage au chlorure d'acide et à la diazocétone, réaction d'ARNDT-EISTERT et saponification, nous arrivions à un acide homo-marrianolique racémique (LXVIa). Cyclisé par chauffage de son sel de plomb, il se transformait en éther méthylique d'œstrone qui, par scission du groupe étheré, nous donnait l'œstrone racémique LXVIIa fondant à 251-254°. Dans le test de l'œstre sur le rat elle avait la moitié de l'activité de l'œstrone naturelle. Nous avons résolu le racémique par son ester *l*-menthoxy-acétique. La saponification de la forme droite, peu soluble dans le méthanol, nous livrait enfin la (+) œstrone elle-même, qui par son point de fusion, son point de fusion mélangé, son pouvoir rotatoire, son spectre infrarouge, l'aspect de ses cristaux et celui de ses dérivés et enfin par son activité œstrogène, s'identifiait complètement à l'hormone naturelle¹.

Ainsi était réalisée la synthèse totale de l'œstrone, objet de tant de travaux, et avec elle celle de toutes les hormones œstrogènes natives, puisque l'œstradiol² et l'œstriol³ ont été ramenés à l'œstrone par voie de synthèse.

Par ailleurs, nous avons obtenu de manière analogue à partir de l'ester marrianolique à point de fusion inférieur (LXVb) une œstrone racémique stéréo-isomère (LXVIIb) fondant à 126-128°, dont les anneaux C et D se trouvent, contrairement à ceux de l'hormone naturelle, en position *cis*. Elle était encore sans effet sur le rat femelle, à la dose de 100 γ . Cela vaut du reste aussi pour la lumi-œstrone, qui fond à 268-269°. Mais tandis que notre *cis*-œstrone appartient à la série A, la lumi-œstrone se range probablement dans la série B de sorte que leur point de fusion mélangé accuse une dépression prononcée.

L'inactivité de la *cis*-œstrone est en opposition frappante avec les constatations que nous avons faites à propos des acides doïsynoliques, chez lesquels les 2 racémiques de la série A sont actifs, l'activité du composé *cis* (A α) dépassant de loin celle du dérivé *trans* (A β).

D. — Synthèses diéniques.

a) — Travaux antérieurs

La synthèse de l'œstrone part du céto-ester octahydro-phénanthrolique LXVIIA dont la préparation

¹ G. ANNER, Communication présentée en octobre 1948 au VIII^e Congrès de chimie biologique à Paris.

² E. SCHWENK et F. HILDEBRANDT, *Naturw.* 21, 177 (1933).

³ A. BUTENANDT, *Z. Naturforschung* 1, 82 (1946). — M. N. HUFFMAN, *J. Biol. Chem.* 169, 167 (1947).

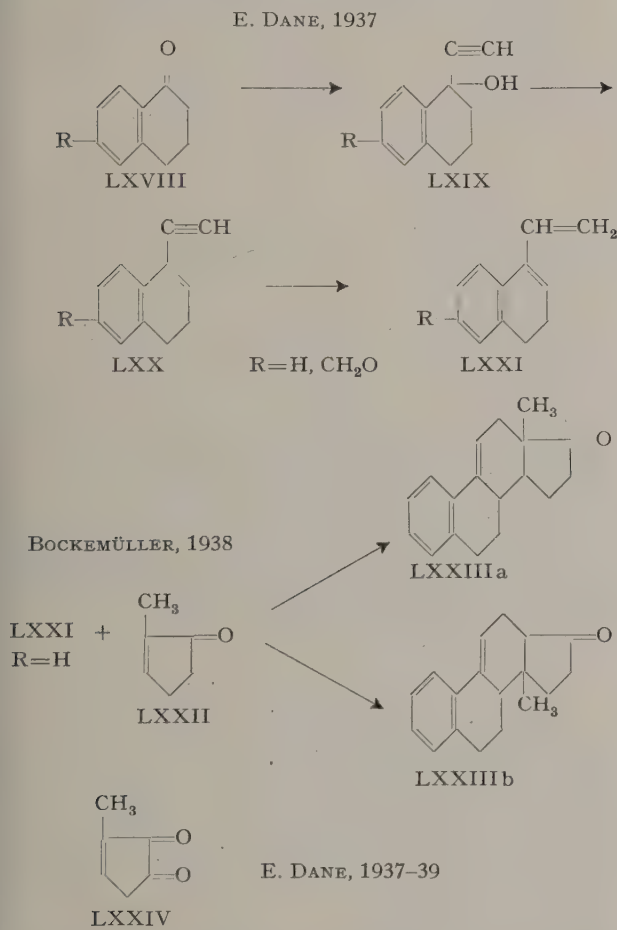
¹ G. ANNER et K. MIESCHER, *Exper.* 4, 25 (1948).

² G. ANNER et K. MIESCHER, *Helv. chim. acta* 31, 2173 (1948).

³ R. ROBINSON et J. WALKER, *J. Chem. Soc. London* 1938, 183.

commence à la m-anisidine. On construit successivement les noyaux du naphthalène, du phénanthrène et enfin du cyclopenténo-phénanthrène. Des savants anglo-saxons¹ et allemands² avaient essayé tôt déjà d'atteindre plus directement au but en recourant à la synthèse diénique.

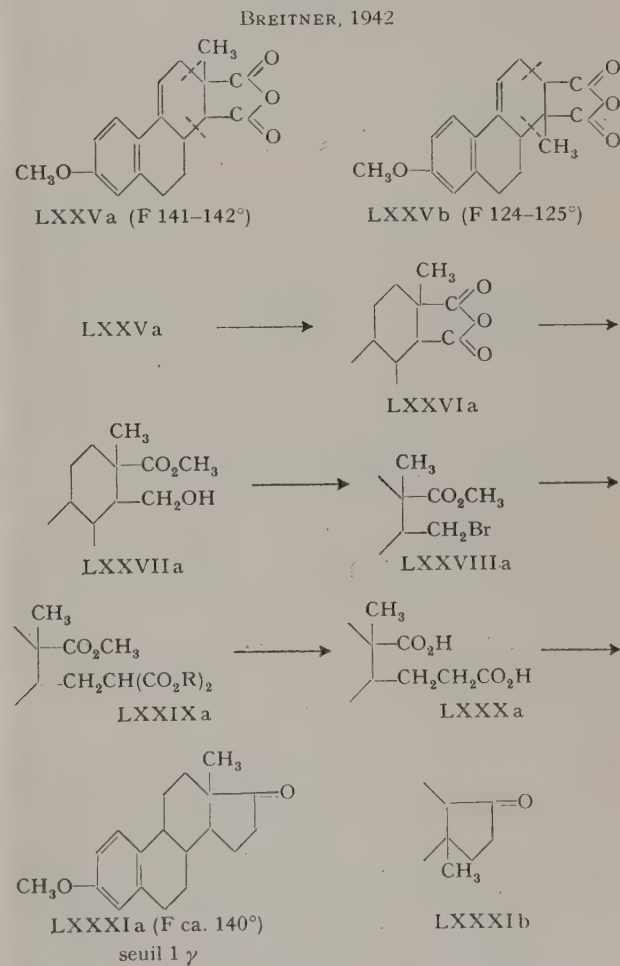
E. DANE³ réussissait la première en 1937 à condenser l'acétylène, sous forme de son dérivé magnésien, avec les deux tétralones-1 (LXVIII), puis à préparer, par déshydratation des carbinols obtenus (LXIX), les deux éthynyl-1-dihydro-3,4-naphtalènes (LXX) et, après hydrogénation partielle, les combinaisons vinyliques correspondantes (LXXI) dont elle reconnaissait aussitôt les aptitudes à la synthèse diénique.



L'addition de la méthyl-cyclopenténone LXXII à ces diènes était particulièrement tentante, car la dihydrogénation du produit de réaction pouvait conduire immédiatement à un composé du type de l'œstrone. BOCKEMÜLLER⁴, dès 1938, signalait une condensation de cette cétone cyclique nonsaturée avec le vinyl-1-dihydro-

3,4-naphtalène (LXXI, R=H) qui aurait pu aboutir à des composés tels que LXXIIIa ou LXXIIIb, mais le cours de la réaction n'était pas clair. A en croire E. DANE¹, la méthyl-cyclo-pentène-dione (LXXIV) réagissait mieux. Cette fois encore la structure du produit obtenu en partant du dérivé méthoxylé en position 6 (LXXI, R=CHO) restait obscure. Après hydrogénation des doubles liaisons, élimination de la fonction cétonique supplémentaire et scission du groupe étheré, elle obtenait un composé qui fondait 45° plus bas que l'œstrone, en différait certainement par la configuration et était dépourvu de tout effet.

En 1939, E. DANE² estimait très faibles les chances de parvenir à l'œstrone naturelle par la synthèse diénique. C'est pourquoi une communication d'un chimiste de l'I. G. Farben, BREITNER³, qui annonçait en 1942 la synthèse, par cette méthode, d'une cétone tétracyclique douée de la même activité que l'œstrone quoique fondant mal et 117° plus bas, ne manqua pas de soulever un certain intérêt. Il fixait l'anhydride citraconique sur le vinyl-1-méthoxy-6-dihydro-3,4-



¹ A. COHEN, *Nature* 136, 869 (1935). — A. COHEN et F. L. WARREN, *J. Chem. Soc. London* 1937, (1315).
² E. BERGMANN et F. BERGMANN, *J. Amer. Chem. Soc.* 59, 1443 (1937).
³ E. DANE, A. W. BINDSEIL et J. SCHMITT, *Liebigs Ann. Ch.* 532, 39 (1937).
⁴ W. BOCKEMÜLLER, *Z. angew. Ch.* 51, 188 (1938).

¹ E. DANE et J. SCHMITT, *Liebigs Ann. Ch.* 536, 196 (1938).
² E. DANE et J. SCHMITT, *Liebigs Ann. Ch.* 537, 246 (1939).
³ St. BREITNER, *Medizin und Chemie* 4, 317 (1942); Report No 248, p. 20, Office of the Publication Board, Washington.

naphtalène (LXXI) et partant du composé LXXVa ou LXXVb (la position du groupe méthyle restait incertaine), puis procédant, comme le montre le tableau suivant, par les intermédiaires LXXVIa à LXXXa, aboutissait à une cétone LXXXIa ou LXXXIb dont la constitution n'était pas précisée. Le bromure LXXVIIa était au reste très instable et formait facilement une lactone.

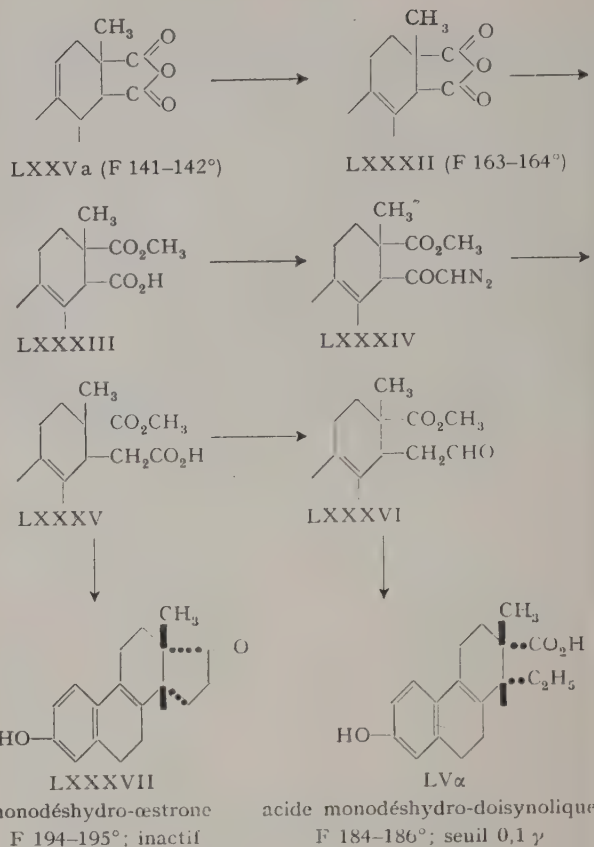
b) Nos essais

Nous avons étudié cette synthèse diénique de manière plus complète et montré que l'anhydride citraconique se fixe dans les deux sens possibles¹. La déshydrogénation au charbon palladié qui aboutit aux méthyl-1- ou -2-phénanthrènes nous a permis d'établir que le composé à bas point de fusion a son groupe méthyle en 1, position indésirable, tandis que celui qui fond plus haut le porte en 2, la position correcte. Il semble donc que BREITNER² a poursuivi sa synthèse dans la série inverse, c'est-à-dire avec un groupe méthyle en 1 et son produit pourrait être identique à un composé synthétisé récemment par BACHMANN³. Le résultat biologique qu'il donne paraît ainsi douteux. A cela s'ajoute encore que les deux fonctions acides de l'anhydride citraconique se situent nécessairement en cis et non en trans, position requise pour la synthèse de l'œstrone. Cela ressort sans équivoque de nos expériences.

En partant du dérivé méthyl-2 (LXXVa) nous avons en effet réussi après déplacement de la double liaison (LXXXII) à ouvrir le groupe anhydride par le méthylate de sodium pour arriver à l'ester-acide voulu (LXXXIII) puis, en passant par la diazocétone LXXXIV et après transposition d'ARNDT-EISTERT, à l'acide α -mono-déshydro-marrianolique (LXXXV) et enfin, par le semi-aldéhyde LXXXVI, à l'acide α -mono-déshydro-doïsynolique (LVa) que nous avons déjà préparé par une méthode différente.

Les groupes carboxyle et éthyle de cet acide sont, comme on pouvait le prévoir, en position cis. Avec un seuil d'activité de 0,1 γ sur le rat il appartient aux plus puissants dérivés de cette série. Nous nous sommes aussi servi de l'ester-acide monodéshydro-marrianolique (LXXXV) pour faire la synthèse de la monodéshydro-œstrone (LXXXVII) correspondante, fondant à 194–195°. Elle est restée sans effet.

L'addition de l'anhydride maléique, de l'acide fumarique et de leurs dérivés mono-méthylés au vinyl-1-naphtalène et à son dérivé méthoxylé et celle de l'anhydride citraconique au vinyl-1-méthoxy-6-dihydro-3,4-naphtalène viennent d'être étudiées par



BACHMANN¹. Nos travaux, pour autant qu'ils se recouvrent, ont donné des résultats concordants².

L'amélioration et la simplification de la synthèse de l'œstrone sont l'objet d'efforts constants. Rappelons ainsi les essais plus anciens de GOLDBERG³ qui condensa le diacétyl-éthylène avec le diène LXXI et mentionnons simplement des travaux plus récents de BUCHTA⁴ et de WOODWARD⁵.

E. – Le champ structural de l'activité œstrogène

J'ai proposé l'année dernière, à l'occasion d'une conférence tenue au Canada⁶, la notion de champ structural de l'activité⁷. J'entends par là l'extension d'une activité physiologique sur un groupe grand ou petit de combinaisons plus ou moins apparentées. J'ai montré comment dans le cadre des «sexogènes» le passage des «gestagènes», combinaisons qui présentent l'action de la progestérone, aux «androgènes» et finalement aux «œstrogènes» s'accompagne d'une

¹ W. E. BACHMANN et L. B. SCOTT, J. Amer. Chem. Soc. 70, 1462 (1948). – W. E. BACHMANN et J. M. CHEMERDA, J. Amer. Chem. Soc. 70, 1468 (1948).

² Toutefois l'anhydride de BACHMANN fondant à 163° correspond à LXXXII et non à LXXVa, comme il le suppose.

³ M. W. GOLDBERG et P. MÜLLER, Helv. chim. acta 23, 831 (1941).

⁴ E. BUCHTA, Ber. Dtsch. chem. Ges. 81, 254 (1948).

⁵ R. B. WOODWARD, communication personnelle.

⁶ K. MIESCHER, Recent Progress in Hormone Research (Proc. of the Laurentian Hormone Conference), Academic Press, New York, Vol. 3, sous presse.

⁷ En anglais «constitutive field of activity» et en allemand «konstitutives Wirkungsfeld».

¹ J. HEER et K. MIESCHER, Exper. 3, 322 (1947); Helv. chim. acta 31, 219, 229 (1948).

² St. BREITNER, Medizin und Chemie 4, 317 (1942); Report No 248, p. 20, Office of the Publication Board, Washington.

³ W. E. BACHMANN et J. M. CHEMERDA, J. Amer. Chem. Soc. 70, 1468 (1948).

extension constante du champ structural de l'activité, le nombre des combinaisons actives augmentant progressivement.

Nos recherches sur les acides doisynoliques montrent que dans cette série, le champ de l'activité œstrogène est relativement vaste. L'effet persiste malgré le passage du système tétracyclique aux systèmes tri- et bicycliques et même malgré le remplacement de la fonction acide par la fonction aldéhyde ou alcool. Elles montrent aussi combien il peut être limité par des conditions d'ordre spatial. Comme nous l'avons vu dans la série des œstrones, la configuration stérique semble y limiter davantage encore le champ structural. La différence pourrait provenir de la position fixe de la fonction cétonique qui s'oppose à la rotation libre du groupe carboxyle.

Mentionnons pour terminer que le champ structural dépend aussi du mode d'application et d'une façon décisive du sujet récepteur¹, homme ou animal.

Conclusion

Comme nous l'avons montré, la synthèse des œstrogènes stéroïdes s'est accomplie par étapes. Leur constitution une fois élucidée, on parvenait, après une première période de huit ans environ, à la synthèse totale d'un de leurs produits d'élimination, l'équilénine, et à une synthèse partielle de l'un d'entre eux, l'œstradiol.

Une seconde période de huit ans s'achevait avec la synthèse des hormones natives elles-mêmes.

Des recherches très complètes sur les acides doisynoliques, une nouvelle classe d'œstrogènes à l'activité puissante, aplanirent la route qui nous conduisit à la synthèse totale de l'œstrone. Comme l'œstradiol et l'œstriol avaient déjà été préparés à ses dépens, ce sont les trois hormones natives elles-mêmes qui sont dès maintenant accessibles à la synthèse totale.

L'équilénine compte deux centres d'asymétrie. Pour les hormones natives leur nombre s'élève de quatre à six et celui des stéréo-isomères optiques de seize (œstrone) à soixante-quatre (œstriol). Et déjà l'attaque se tourne vers la synthèse encore plus ardue

des stéroïdes purement hydroaromatiques où l'on dénombre six (testostérone), voire huit centres d'asymétrie (cholestérol), ce qui, pour ce dernier ne représente pas moins de deux cent cinquante-six stéréo-isomères optiques possibles. Le prix Nobel de chimie de 1947, Sir ROBERT ROBINSON¹ vient précisément de faire connaître ses derniers succès dans cette direction.

Il y a évidemment lieu de se demander si la synthèse de combinaisons à l'architecture spatiale si compliquée prendra jamais une importance pratique, alors que la nature, avec les stérols, nous dispense le squelette nécessaire tout fait. A quoi nous répondrons que la recherche doit se fixer ses buts hors de considérations semblables. La nature semble suivre sans peine la voie de la synthèse asymétrique, à nous de lui arracher ses secrets.

Summary

After the discovery of the œstrogenic hormones in 1929 and subsequent years, and the determination of their constitution, their synthesis was performed in two stages.

Following many preliminary synthetic attempts (BARDHAN, BUTENANDT, ROBINSON and others), in 1940 equilenine was synthesized by BACHMANN and, at almost the same time, INHOFFEN succeeded in the partial synthesis of œstrone from cholesterol.

In 1942 the preparation of a nearly inactive isomer of œstrone was disclosed by BACHMANN. Of decisive importance, however, was the elucidation since 1944 of the doisynolic acids deriving from the œstrogenic ketones and showing themselves high œstrogenic effectiveness, as well as the discovery of important sterical relationships between ketones and acids.

The total synthesis of the doisynolic acids in 1947, which was conducted via sterically uniform ketoesters of the octahydrophenanthrene series, simultaneously cleared the way to the natural œstrone itself (1948). Now all genuine œstrogens (œstrone, œstradiol, œstriol) are accessible to total synthesis.

Attempts to obtain œstrone by means of a diene-synthesis have so far been unsuccessful. On the other hand, it was possible, by this method, to build up a sterically uniform but inactive monodehydro-œstrone and the corresponding highly active monodehydro-doisylnolic acid.

Attention is drawn to the new conception of the "constitutional field of activity".

¹ S. W. CORNFORTH et R. ROBINSON, *Nature* 160, 737 (1947).

¹ R. COURRIER, A. HOREAU et J. JACQUES, *C. r. Soc. biol.* 142, 146 (1948).

Wirkstoffe der tierischen Befruchtung

Von HANS-JOACHIM BIELIG¹ und Graf FRED MEDEM², Heidelberg

Der Begriff Befruchtungstoffe

Bei den Metazoen, welche hier ausschließlich betrachtet werden sollen, besteht die Befruchtung in einer

¹ Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung (Institut für Chemie), Heidelberg.

² Kaiser-Wilhelm-Inst. f. Biol. (Abt. M. HARTMANN), Hechingen.

Vereinigung von Spermium und Ei. Seit den klassischen Untersuchungen von O. und R. HERTWIG (1875 u. ff.) an Seeigeln weiß man, daß der Vorgang der Befruchtung in einer Reihe von Akten abläuft: u. a. Ansammlung der Spermien an der Eioberfläche, Eindringen eines Spermakopfes in das Eiinnere, Ausbildung

der Befruchtungsmembran, Verschmelzung von männlichem und weiblichem Vorkern.

Seit der Jahrhundertwende¹ ist zuerst von J. DE MEYER (1911) und vor allem von F. R. LILLIE (1912 u. ff.) gezeigt worden, daß die weiblichen Geschlechtszellen der Seeigel und Polychäten Stoffe enthalten, die die Spermien spezifisch anlocken, in ihrer Bewegung aktivieren und zur Agglutination bringen. Man wußte auch schon, daß diese Wirkstoffe, welche von den Eiern an Wasser (Eisekretwasser) abgegeben werden und daß ihre Wirkung durch Sperma abgeschwächt werden kann. Die Bedeutung, die man solchen Stoffen zuschrieb, geht daraus hervor, daß LILLIE² sie «Fertilizin» genannt hat.

Aus seinen Untersuchungen über die relative Sexualität der Braunalge *Ectocarpus siliculosus* zog M. HARTMANN (1925) den Schluß, daß gleichgestaltete Gameten verschiedenen Geschlechts sich stofflich unterscheiden und daß die Vereinigung der männlichen und weiblichen Gameten durch geschlechtsspezifische Stoffe bedingt wird. Der Nachweis derartiger Stoffe wurde dann von ihm und seinen Schülern für eine Reihe weiterer Algen erbracht und besonders von F. MOEWUS (1933 u. ff.) an der einzelligen Grünalge *Clamydomonas eugametos* näher geprüft.

Es ist das Verdienst M. HARTMANN (1932), erkannt zu haben, daß zwischen den geschlechtsspezifischen Stoffen der Algen und denen der Seeigel kein grundsätzlicher biologischer Unterschied besteht. In Zusammenarbeit zwischen dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Biologie in Berlin-Dahlem, später Hechingen (M. HARTMANN), und dem Kaiser-Wilhelm-Institut für medizinische Forschung in Heidelberg (R. KUHN) wurden zum ersten Male aus den Geschlechtsprodukten des Seeigels *Arbacia pustulosa* und aus denen der Regenbogenforelle (*Salmo irideus*) derartige Stoffe isoliert und zum Teil ihre chemische Natur erkannt. Diese Wirkstoffe haben nach einem gemeinsamen Vorschlag von M. HARTMANN und R. KUHN (1939) den Namen *Gamone*, d. h. Befruchtungsstoffe erhalten, da sie die Vereinigung der Geschlechtszellen bewirken und damit die Befruchtung ($\gamma\acute{\alpha}\mu\omicron\varsigma$ = Hochzeit) ermöglichen³.

¹ Vgl. die folgenden Zusammenfassungen des Gebietes: J. LOEB, Artificial Parthenogenesis and Fertilization (University Press, Chicago, 1913). – F. R. LILLIE, Fertilization. General Cytology (University Press, Chicago, 1924). – E. GODLEWSKI, Problem der Entwicklungserregung (Physiologie der Befruchtung) in: A. BETHES Hb. d. normalen u. pathologischen Physiologie, Bd. 14, 1 (Springer, Berlin 1926). – E. E. JUST, Protoplasma 10, 300 (1930). – R. KUHN, Angew. Chem. 53, 1 (1940). – M. HARTMANN, Naturwiss. 28, 807 (1940); Die Sexualität (G. Fischer, Jena 1943). – P. E. LINDAHL, Fortschr. Zool. 5, 193, 356 (1941). – J. RUNNSTRÖM, Scientia 71, 149 (1942). – E. RAMSTAD, Norsk Farm. Selskab. 5, 65 (1943). – LORD ROTHSCHILD, Nature 157, 720 (1946). – J. HÄMMERLING, Fortschr. Zool. 8, 159 (1947). A. TYLER, Ann. Rev. Physiol. 9 19 (1947).

² F. R. LILLIE, Science (N.Y.) 38, 524 (1913).

³ Zur Definition und Abgrenzung der Begriffe Hormon, Gamon, Termon vgl. R. KUHN, Angew. Chem. 53, 1 (1940).

Die Gyno- und die Androgamone

HARTMANN, SCHARTAU, KUHN und WALLENFELS¹ konnten 1939 an der Zoologischen Station in Neapel (R. DOHRN) am Seeigel *Arbacia pustulosa* feststellen, daß die von LILLIE und anderen gefundenen Wirkungen der Eisekrete auf die Spermien verschiedenen, von einander trennbaren Stoffen zukommen. Es wurden zu nächst 4 Gamone nachgewiesen: 2 in den weiblichen Gameten (Eiern) enthaltene Gynogamone und 2 in den männlichen Gameten (Sperma) vorkommende Androgamone. Nach einer Anregung von R. KUHN (1947) bezeichnet man die Gamone mit ihrem Anfangsbuchstaben unter Anfügung römischer Ziffern als Indices: G_I , G_{II} usw. für die Gynogamone, A_I , A_{II} usw. für die Androgamone. Eine ähnliche Nomenklatur benutzten schon J. RUNNSTRÖM und Mitarbeiter² für die Androgamone (A_I , A_{II} usw.)³.

Die Auffindung von wenigstens 2 Gyno- und 2 Androgamonen bei *Arbacia pustulosa* war für die Feststellung von Befruchtungsstoffen bei anderen Organismen wegweisend. Sie erlaubte einerseits die Einordnung vieler Einzelbeobachtungen gamonartiger Wirkstoffe, wie sie von FRANK⁴, TYLER und Mitarbeitern⁵, SOUTHWICK⁶ und anderen bei Seeigeln sowie bei Mollusken erhoben worden waren. Andererseits konnten SCHARTAU und MONTALENTI⁷ am Flußneunauge (*Lampetra fluviatilis*), MEDEM⁸ bei marinen Schnecken und Muscheln, und neuerdings HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG⁹ bei Forellen zeigen, daß auch hier mindestens 4 Gamone wirksam sind.

Untersuchungen der letzten Jahre deuten darauf hin, daß einzelne dieser Gamone, die jeweils zwei oder mehr verschiedene Wirkungen entfalten, stofflich noch nicht einheitlich sind. Es bahnt sich hier eine ähnliche Entwicklung an, wie sie von der Vitaminforschung her bekannt ist. Dort ließen sich zum Beispiel die ursprünglich dem «Vitamin B» zugeschriebenen Wirkungen auf die Anwesenheit einer ganzen Reihe von spezifischen Faktoren (z. B. Filtratfaktor, antiparalytischer Faktor u. a.) zurückführen. Die Glieder des «Vitamin-B-Komplexes» wurden mit fortschreitender Verfeinerung der

¹ M. HARTMANN, O. SCHARTAU, R. KUHN und K. WALLENFELS. Naturwiss. 27, 433 (1939); 28, 144 (1940). – M. HARTMANN und O. SCHARTAU; Biol. Zbl. 59, 571 (1939). – M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

² J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944).

³ Die Schreibweise mit römischen Ziffern wird vorgezogen, da arabische Ziffern als Indices bereits für die Bezeichnung von Vitaminen (A_1 , A_2) und Globulinen (G_1 usw.) vergeben sind.

⁴ J. A. FRANK, Biol. Bull. 76, 190 (1939).

⁵ A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 317 (1939); 26, 249 (1940); Biol. Bull. 78, 159 (1940). – A. TYLER und S. W. FOX, Science (N.Y.) 90, 516 (1939).

⁶ W. E. SOUTHWICK, Biol. Bull. 77, 147, 157 (1939).

⁷ O. SCHARTAU und G. MONTALENTI, Biol. Zbl. 61, 473 (1941).

⁸ Graf F. MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

⁹ M. HARTMANN, Naturwiss. 32, 231 (1944). – M. HARTMANN, F. GRAF MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

Tabelle I
Farbstoffe in den Ovarien einiger Tiere

Tierklasse	Tierart	Farbstoffe	Literatur
Echinodermen	<i>Arbacia pustulosa</i> <i>Arbacia aequituberculata</i> <i>Strongylocentrotus lividus</i>	Naphthochinone, Echinochrom A, B, C Echinochrom Carotinoide β -Carotin, Echinenon	KUHN und WALLENFELS ¹ LEDERER und GLASER ² LEDERER ³
Mollusken	<i>Pecten maximus</i> <i>Pectunculus glycymeris</i>	β -Carotin, Pectenoxanthin Lutein, Cynthiaxanthin (Glycymerin)	LEDERER ³ LEDERER ³
Crustaceen	<i>Homarus vulgaris</i> (<i>Astacus gammarus</i>) <i>Maja squinado</i>	Astaxanthin Astaxanthin, β -Carotin	KUHN und SÖRENSEN ⁴ KUHN, LEDERER und DEUTSCH ⁵ KUHN, STENE und SÖRENSEN ⁶
Teleosteer	<i>Salmo irideus</i> <i>Salmo fario</i> <i>Eleginus navaga</i>	β -Carotin, Lutein, Astaxanthin Astaxanthin β -Carotin, Xanthophylle	HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG ⁷ SÖRENSEN und STENE ⁸ LEDERER ⁹
Amphibien	<i>Rana esculenta</i>	β -Carotin, Lutein, Zeaxanthin	ZECHMEISTER und TUZSON ¹⁰
Aves	<i>Gallus domesticus</i>	Carotin, Lutein, Zeaxanthin, Krypto- xanthin u.a.	KUHN und Mitarbeiter ^{11, 12} GILLAM und HEILBRON ¹³ EULER und GARD ¹⁴
Mammalia	<i>Bos taurus</i>	β -Carotin	KUHN und BROCKMANN ¹²

Trennungs- und Charakterisierungsmethoden einzeln in ihrer chemischen Struktur und ihrer biologischen Wirkung erkannt. Angelehnt an die Nomenklatur der Vitamine, sprechen wir bei den Befruchtungsstoffen in ähnlichen Fällen von *Gamonkomplexen* (z.B. Androgamon-II-Komplex), bei den einzelnen Gliedern eines Komplexes von *Faktoren* (z.B. eihüllelösender A_{II} -Faktor, fällender A_{II} -Faktor).

Der Besprechung der einzelnen Befruchtungsstoffe sei zunächst eine Übersicht vorausgeschickt, die die bisher gefundenen charakteristischen Eigenschaften wiedergibt:

Gynogamon-I-Komplex. Dem Gynogamon-I-Komplex kommen folgende Wirkungen zu: 1. chemotaktische Anlockung der Spermatozoen (Aggregation LILLIES); 2. Aktivierung der Spermienbewegung (aktivierender Faktor, activation principle); 3. Antagonismus zum Androgamon I. Die Wirkgruppe, die diese Fähigkeiten besitzt, erwies sich in den bisher untersuchten Fällen als Farbstoff; bei *Arbacia pustulosa* als ein Naphthochinon-abkömmling, bei der Regenbogenforelle (*Salmo irideus*)

¹ R. KUHN und K. WALLENFELS, Ber. dtsch. Chem. Ges. 72, 1407 (1939).
² E. LEDERER und R. GLASER, C. R. Acad. Sci. (Paris) 207, 454 (1938).
³ E. LEDERER, C. R. Soc. Biol. 20, 567 (1938).
⁴ R. KUHN und N. A. SÖRENSEN Ber. dtsch. Chem. Ges. 71, 1879 (1938).
⁵ R. KUHN, E. LEDERER und A. DEUTSCH, Z. physiol. Chem. 220, 229 (1933).
⁶ R. KUHN, J. STENE und N. A. SÖRENSEN, Ber. dtsch. Chem. Ges. 72, 1688 (1939).
⁷ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

als Carotinoid. In den Eiern liegen diese Farbstoffe symplexartig an Proteine gebunden vor. Die Symplexe sind thermolabil, die freien Farbstoffe weitgehend thermostabil, aber lichtempfindlich.

Gynogamon II (arteigen = Isoagglutinin, artfremd = Heteroagglutinin). Das G_{II} bewirkt eine Agglutination der Spermatozoen. Das Agglutinin kann im Eihalt enthalten sein (z.B. bei *Salmo irideus*) oder sich nur in der Gallerthülle der Eier befinden (z. B. bei *Arbacia pustulosa* und *Megathura crenulata*). Chemisch handelt es sich um Proteine oder diesen nahestehende Stoffe, die teils thermolabil sind (z.B. bei *S. irideus*, *A. pustulosa*). Das *M.-crenulata*-Agglutinin ist indessen thermostabil. Das G_{II} entspricht in seiner Wirkung dem Fertilizin LILLIES.

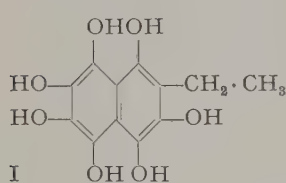
Androgamon I. Das A_I bedingt je nach Konzentration teilweise oder völlige Lähmung der Spermienbewegung. Mit der prosthetischen Farbstoffgruppe des G_I -Komplexes reagiert es in unbekannter Weise, wobei sowohl die G_I -Wirkungen als auch der A_I -Effekt aufgehoben werden können. Das Androgamon I läßt sich aus getrocknetem Sperma mit Methanol extrahieren, ist niedermolekular, thermostabil und, soweit wir bis-

⁸ N. A. SÖRENSEN und J. STENE, Kongr. norske vid. Selsk. Skr. 1938, Nr. 9 (1939).
⁹ E. LEDERER, C. R. Soc. Biol. 20, 554 (1938).
¹⁰ L. ZECHMEISTER und P. TUZSON, Z. physiol. Chem. 238, 197 (1936).
¹¹ R. KUHN, A. WINTERSTEIN und E. LEDERER, Z. physiol. Chem. 197, 141 (1931).
¹² R. KUHN und H. BROCKMANN, Z. physiol. Chem. 206, 41 (1932).
¹³ A. E. GILLAM und I. HEILBRON, Biochem. J. 29, 1064 (1938).
¹⁴ H. v. EULER und H. GARD, Ark. Kemi, Mineral. Geol. 10B, Nr. 19 (1931).

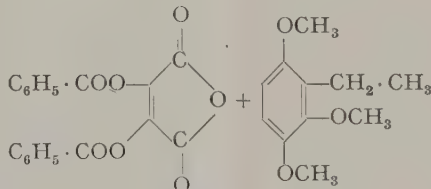
her wissen, weder art- noch gattungs- oder ordnungsspezifisch. Über die chemische Natur ist bis heute nichts Endgültiges bekannt.

Androgamon-II-Komplex. Die Wirkungen dieses Komplexes äußern sich: 1. in einer Auflösung (z.B. *Arbacia pustulosa*, *Haliotis tuberculata*); 2. in einer Fällung der Eihüllensubstanz (z.B. *Echinocardium cordatum*, *Salmo irideus*); 3. in einer Aufhebung der Agglutinationswirkung des Gynogamons II. Die lösende Wirkung auf die Eihülle kommt einem thermolabilen Ferment, einer Hyaluronidase, zu. Daneben scheint bei *A. pustulosa* ein hochmolekularer, thermostabiler Faktor vorzuliegen, der ebenfalls die Viskosität der Eihülle herabsetzt. Der Antagonismus zum G_{II} und die Fällung der Eihüllensubstanz werden durch sehr thermostabile, methanolunlösliche Faktoren bedingt, die sich bei *S. irideus* durch Nukleinsäuren ersetzen lassen.

In einer Reihe von Fällen ist die Anwesenheit von Gamonen nur an dem wechselseitigen Antagonismus zwischen G_I -Komplex und A_I bzw. zwischen G_{II} und



Leukochinochrom A



Echinochrom A

dem A_{II} -Komplex erkannt worden. Je nach der Konzentration des einen Befruchtungsfstoffes wird die des Antagonisten dann entweder abgeschwächt oder völlig aufgehoben.

Weitere mit der Befruchtung in Zusammenhang gebrachte Stoffe, z.B. ein in Eiern vorkommendes *Antifertilizin* und ein *Androgamon III*, sollen später gesondert besprochen werden, da ihre Bearbeitung unseres Wissens noch in den Anfängen steht.

Der Gynogamon-I-Komplex

Die Eier zahlreicher Tiere sind gefärbt. Durch die Untersuchungen vor allem von KUHN, LEDERER und deren Mitarbeitern sind die Farbstoffe aus den Ovarien einer Reihe von Tieren isoliert worden. Diese Pigmente, deren chemische Struktur in den meisten Fällen erkannt werden konnte, gehören entweder zur Gruppe der *Carotinoide* oder zu der der *Naphthochinonfarbstoffe* (Tab. I). Das Interesse der Biologen erweckten die Eifarbstoffe indessen erst, als man in zwei Fällen ihre Gamonnatur erkannt hatte. HARTMANN, SCHARTAU, KUHN und WALLENFELS¹ entdeckten die Gynogamon-I-Wirkung des Naphthochinonfarbstoffes Echinochrom A bei dem Seeigel *Arbacia pustulosa*; HARTMANN,

MEDEM, KUHN und BIELIG¹ die des Carotinoids Astaxanthin bei der Regenbogenforelle *Salmo irideus*².

Das von KUHN und WALLENFELS³ aus den vollreifen, braunroten Ovarien von *A. pustulosa* isolierte *Echinochrom A*, 10 mg je Ovar, kristallisiert in roten Nadeln vom Schmelzpunkt 220°. Es ist kaum löslich in Wasser, löst sich gut in Na-Hydrogenkarbonat und hat ein dreibandiges Absorptionsspektrum (526, 490, 456 m μ in Chloroform). Nach den Ergebnissen von Zinkstaubdestillation, reduzierender Azetylierung, Methylierung mit Diazomethan und Oxydation mit Chromsäure (Bildung von Propionsäure) kommt dem Leukoechinochrom A die Formel I zu. Das Echinochrom A selbst ist ein 2-Äthyl-3,5,6,7,8-pentoxynaphthochinon-1,4 (II), das im Gleichgewicht mit isomeren Chinonen vorliegen dürfte. Die Konstitution wurde von WALLENFELS und GAUHE⁴ durch Synthese sichergestellt: Dibenzoyloxymaleinsäureanhydrid und 2-Äthyl-1,3,4-trimethoxybenzol kondensieren in der Aluminiumchlorid-Natriumchlorid-Schmelze bei 180–183° zu II.

Violette Ovarien, die sich im Zustand beginnender Reife befinden, enthalten wenig Echinochrom A, indessen zwei ihm verwandte, noch unaufgeklärte, kristallisiert erhaltene Naphthochinonfarbstoffe, die Echinochrome B und C. Das rote B ist wie A in Natronlauge löslich, das violette C nicht.

In den Eiern sind die Echinochrome, wie KUHN und WALLENFELS⁵ gefunden haben, an hochmolekulare, proteinartige Träger gebunden. Diese *Symplexe* sind, verglichen mit den freien Farbstoffen, tiefer gefärbt und lösen sich leicht in 4%igem Natriumchlorid oder Meerwasser. Aus ihnen lassen sich die prosthetischen Farbstoffgruppen mit n/100 Salzsäure, Alkohol oder Invertseifen⁶ abspalten, wobei die Haftfestigkeit in der Reihenfolge C $\rightarrow$ B $\rightarrow$ A abnimmt. Sowohl freies wie

¹ M. HARTMANN, O. SCHARTAU, R. KUHN und K. WALLENFELS, Naturwiss. 27, 433 (1939); 28, 144 (1940). – M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).

¹ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

² Daß Carotinoide auch bei Pflanzen gamonwirksam sind, haben zuerst KUHN, MOEWUS und JERCHEL⁷ an der Grünalge *Clamydomonas eugametos* entdeckt. Crocin wirkt hier als Geißelbildungsstoff.

³ R. KUHN und K. WALLENFELS, Ber. dtsh. Chem. Ges. 72, 1407 (1939).

⁴ K. WALLENFELS und A. GAUHE, Ber. dtsh. Chem. Ges. 76, 325 (1943).

⁵ R. KUHN und K. WALLENFELS, Ber. dtsh. Chem. Ges. 73, 458 (1940).

⁶ R. KUHN und H.-J. BIELIG, Ber. dtsh. Chem. Ges. 73, 1080 (1940).

⁷ R. KUHN, F. MOEWUS und D. JERCHEL, Ber. dtsh. Chem. Ges. 71, 1541 (1938). – F. MOEWUS, Naturwiss. 31, 420 (1943).

gebundenes Echinochrom A sind reversibel hydrier- und dehydrierbar. Das Redoxpotential liegt zwischen $E_0 = -76$ und -81 mV¹.

Der im Eiinhalt vorkommende *binäre Symplex*, Echinochrom-A-...-Träger, läßt sich aus gefroren zerkleinerten, gallerthüllefreien Eiern herauslösen und mit Ammonsulfat fällen. Er ist biologisch unwirksam. Mit dem aus der farbstofffreien Gallerthülle isolierten Hilfs-träger beladen, wird der binäre zum biologisch hoch-wirksamen ternären Symplex, Echinochrom-...-Träger-...-Hilfs-träger. Wie HARTMANN, SCHARTAU und WALLENFELS² festgestellt haben, aktiviert dieser Sym-plex die Spermien von *A. pustulosa* noch in einer Ver-dünnung von 1:300 Milliarden, d.h. rund 100mal stär-ker als das freie Echinochrom A, das noch in der Grenz-verdünnung von 1:2,5 Milliarden bewegungsaktivierend wirkt. Die entsprechende Wirkung von Eisekretwasser hört bereits in einer Konzentration von 1:50000 auf (Tab. II). Der *ternäre Symplex* scheint danach der eigentliche Urheber der G_1 -Wirkungen bei *A. pustulosa* zu sein. Das geht vor allem aus der merkwürdigen Tat-sache hervor, daß im biologisch unwirksamen binären Symplex, der rund 35 kg hochmolekulare organische Substanz auf 1 Mol Farbstoff enthält, doppelt soviel Echinochrom A gebunden ist wie im ternären Symplex. Das *Echinochrom B* ist bisher biologisch nicht vom Echinochrom A zu unterscheiden. Während das Echino-chrom A indessen beim Stehen im Tageslicht zuneh-mend inaktiver wird (vgl. Tab. II, letzte Spalte), bleibt die Wirkung des Echinochroms B unter denselben Be-dingungen wochenlang unvermindert erhalten.

CORNMAN³ findet bei *Arbacia punctulata* ebenfalls die aktivierende Wirkung eines aus den Eiern gewon-nenen «Echinochromsymplexes», während das Ei-

sekretwasser die Beweglichkeit der Spermien nicht steigerte. Im Zusammenhang damit ist die Feststellung SHAPIROS¹ bemerkenswert, daß innerhalb mehrerer Stunden keine nennenswerten Mengen Farbstoff von den Eiern dieses Seeigels an Seewasser abgegeben werden.

Daß das Echinochrom A auch chemotaktisch anlok-kend auf die Spermatozoen von *A. pustulosa* wirkt, zeigten HARTMANN und SCHARTAU² in einem auf DAKIN und FORTHAM³ zurückgehenden Kapillarversuch: beid-seits offene Kapillaren, die den in Seewasser gelösten Farbstoff bzw. Eisekretwasser oder Seewasser allein enthalten, werden in eine Spermasuspension gebracht. Die Menge der Spermien, die innerhalb weniger Mi-nuten in die Kapillaren einwandern, fällt in der Reihen-folge: Echinochrom A, Eisekretwasser, Seewasser.

Die Eier der Regenbogen- und der Bachforelle, die von HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG⁴ auf Ga-mone untersucht wurden, sind goldgelb bis ziegelrot gefärbt. Auch das Fruchtwasser, in das die Eier im Ovar eingebettet sind und das beim Streifen der Tiere mit den Eiern zusammen abgegeben wird, hat gelbe Farbe. Es enthält, ähnlich wie ein Eisekretwasser, In-haltsstoffe des Eies. Im Fruchtwasser zeigen die Sper-mien von *Salmo irideus*, die im Wasser nur weniger als eine Minute lang beweglich werden, eine mindestens sechsmal längere und dreimal aktivere Bewegung. Der Zusatz von Ovarialflüssigkeit zum Sperma vermag also hier nicht nur die Spermienbewegung auszulösen, die nach SCHLENK und KAHMANN⁵ auf einer Abnahme der Konzentration an Kaliumionen beruht, er zeigt auch, daß das Fruchtwasser die bewegungsaktivierende Wir-kung des G_1 -Komplexes hat.

Von den drei im Eiöl der Regenbogenforelle gelösten Carotinoiden kommt diese Wirkung in erster Linie dem Astaxanthin zu, welches mengenmäßig 12% der Gesamtcarotinoide des Eies ausmachte (Tab. III). In

Tabelle II
Aktivierung der Spermienbewegung bei *Arbacia pustulosa* durch Ei-sekretwasser und Echinochrom A
(nach HARTMANN und SCHARTAU⁴, abgeändert)
Aktivitätsgrade der Spermien 0 bis 3. Erhitztes Eisekretwasser: Stammlösung 1 Teil Eier auf 5 Teile Seewasser, 2 Stunden bei 95°

Eisekretwasser		Echinochrom A		
		Konzen-tration g/cm ³	Aktivitätsgrade, der Spermien in	
Verdünnungs-grad	Aktivitäts-grad		frischer Lösung	derselb. Lsg. nach 4 Tga. am Licht
1:10 ²	3	5 · 10 ⁻⁶	3	2
1:10 ³	3	5 · 10 ⁻⁷	3	1 (?)
1:10 ⁴	3	5 · 10 ⁻⁸	3	—
1:3 · 10 ⁴	2	1,5 · 10 ⁻⁹	2	—
1:5 · 10 ⁴	1	2,5 · 10 ⁻⁹	2	—

¹ K. WALLENFELS und W. MÖHLE, Ber. dtsh. Chem. Ges. 76, 924 (1943).
² M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).
³ J. CORNMANN, Biol. Bull. 80, 202 (1941).
⁴ M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).

Tabelle III
Die Eifarbstoffe der Regenbogenforelle (nach HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG⁶)

	γ% des Frischeies	mg% des Eiöls	γ je Frischei
Gesamtcarotinoide*	62,3	17,5	0,028
Lutein	43,4	12,0	0,019
β-Carotin	12,0	3,5	0,005
Astaxanthin	7,2	2,0	0,003
Laktoflavin	220	24,6**	0,35

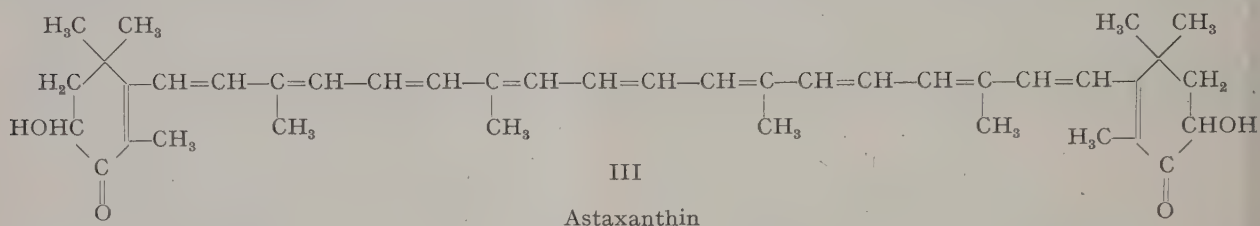
* Als Lutein berechnet. ** mg% der Eiflüssigkeit.
¹ H. SHAPIRO, J. Gen. Physiol. 29, 267 (1946).
² M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).
³ W. J. DAKIN und M. G. S. FORTHAM, Brit. J. Exp. Biol. 1, 183 (1924).
⁴ M. HARTMANN, Naturwiss. 32, 231 (1944). — M. HARTMANN, F. Graf MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).
⁵ W. SCHLENK jr. und H. KAHMANN, Biochem. Z. 295, 283 (1938).
⁶ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

Tabelle IV

Aktivitätsgrade und Bewegungszeiten von Spermien der Regenbogenforelle in verschiedenen Medien
(nach HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG¹)

Aktivitätsgrade 0 bis 4; Bewegungszeiten in Sekunden; Temperatur 10°. 1 mm³ Sperma in 1 Tropfen (= 0,06 cm³) Medium sorgfältig verteilt. (Mittelwerte und mittlere Fehler aus je 6–10 Bestimmungen.)

Medium	Wasser p_H 6,6	Fruchtwasser		Fruchtwasser gekocht p_H 9,0	Asta- xanthin 60 γ /cm ³	β -Carotin 120 γ /cm ³	Lutein 115 γ /cm ³	Lakto- flavin 1 mg/cm ³
		p_H 7,7	p_H 9,0		abgekochtes Fruchtwasser			
Anfangsaktivitätsgrad	1	3	1	1–2	4	3–4	2–3	2–3
Freie Beweglichkeit bei maxi- maler Aktivität bis	17 $\pm$ 3,5	25 $\pm$ 3	19 $\pm$ 3,5	22 $\pm$ 2	28 $\pm$ 1,5	28 $\pm$ 3,5	26 $\pm$ 3,5	24 $\pm$ 1,5
Freie Beweglichkeit bei mini- maler Aktivität bis	30 $\pm$ 4	83 $\pm$ 11	55 $\pm$ 13	47 $\pm$ 9	59 $\pm$ 4,5	58 $\pm$ 9,5	67 $\pm$ 12	44 $\pm$ 2
Bewegung an Ort bis	37 $\pm$ 6,5	216 $\pm$ 27	69 $\pm$ 4	65 $\pm$ 9	93 $\pm$ 6,5	89 $\pm$ 23	93 $\pm$ 10,5	74 $\pm$ 7



abgekochtem Fruchtwasser kolloidal gelöstes kristallisiertes *Astaxanthin*, das KUHN und SÖRENSEN² aus Hummereiern isoliert und als 5,5'-Dioxy-4,4'-diketo- β -carotin (III) erkannt hatten, bringt noch in einer Verdünnung von 1:100000 die Spermien von *Salmo irideus* auf den höchsten beobachteten Grad der Beweglichkeit. Bei derartigen Versuchen muß auf sorgfältige Einhaltung vergleichbarer Wasserstoffionenkonzentrationen geachtet werden, da die Spermienbeweglichkeit auch vom p_H beeinflusst wird³. Zum Beispiel nimmt in dem für die Carotinöidlösungen als Schutzkolloid verwandten abgekochten Fruchtwasser, das ein p_H von 9 hat, die Aktivität der Spermien, verglichen mit nativem Fruchtwasser (p_H 7,7) ebenso stark ab, wie wenn letzteres ohne Verdünnung auf p_H 9 gebracht wird. Die Befunde der Spermienaktivierung in den verschiedenen genannten Medien enthält Tab. IV.

Das Astaxanthin lockt ferner die Spermatozoen von *Salmo irideus* im Kapillarversuch chemotaktisch an, hat also auch die zweite für den G_1 -Komplex charakteristische Wirkung. Die Methodik wurde durch Anwendung einseitig geschlossener Kapillaren verbessert. Von den übrigen Eifarbstoffen der Regenbogenforelle erwiesen sich Lutein und Laktoflavin sowohl im Aktivierungswie im Kapillarversuch als völlig unwirksam. Dem β -Carotin kommt eine schwächer aktivierende und chemo-

taktische Wirkung zu (vgl. die Tab. IV und V). Es ist indessen im Gegensatz zum Astaxanthin nicht befähigt, durch Androgamon I völlig gelähmtes Sperma wieder beweglich zu machen, worauf bei der Besprechung des A_1 noch eingegangen wird. Die merkwürdige Tatsache, daß im Eiöl gelöste Farbstoffe an die wässrige Phase (Fruchtwasser) abgegeben werden und dort biologische Wirkungen ausüben, wird durch die Beobachtung erklärlich, daß das Eiöl, welches 3,6% des Gesamteies ausmacht, an die in der Eiflüssigkeit vorkommenden Lipoproteide gebunden ist und sich erst nach deren Denaturierung in Fettlösungsmitteln aufnehmen läßt⁴.

Das Sperma der Bachforelle (*Salmo fario*) verhält sich in Wasser und Fruchtwasser hinsichtlich Aktivitätsgrad und Bewegungsdauer gleich dem von *Salmo irideus*. Diese Wirkung dürfte auch hier auf dem von SÖRENSEN und STENE² festgestellten Gehalt der Eier an Astaxanthin beruhen. Weiter deutet das Vorkommen dieses Farbstoffes in den Eiern des Hummers³ und der Seespinne⁴ darauf hin, daß es hier ebenfalls am Befruchtungsvorgang teilnimmt. Beim Flußneunauge (*Lampetra fluviatilis*), dessen Spermien in Wasser etwa fünfmal länger als die von *S. irideus* beweglich sind, beobachteten SCHARTAU und MONTALENTI⁵, daß die am animalen Eipol in Leitungswasser entstehende

¹ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

² R. KUHN und N. A. SÖRENSEN, Ber. dtsch. Chem. Ges. 71, 1879 (1938).

³ W. SCHLENK jr., Biochem. Z. 265, 29 (1933). – Ö. WINGE und E. DITLEVSEN, C. R. Trav. Lab. Carlsberg 22, 121 (1937).

⁴ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

² N. A. SÖRENSEN und J. STENE, Kongr. norske vid. Selsk. Skr. 1938, Nr. 9 (1939).

³ R. KUHN und N. A. SÖRENSEN, Ber. dtsch. Chem. Ges. 71, 1879 (1938).

⁴ R. KUHN, E. LEDERER und A. DEUTSCH, Z. physiol. Chem. 220, 229 (1933).

⁵ O. SCHARTAU und G. MONTALENTI, Biol. Zbl. 61, 473 (1941).

Tabelle V
Chemotaktische Wirkung von Carotinoiden auf die Spermien der Regenbogenforelle (Kapillarversuche)
(nach HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG, [Vgl. Note I, Tab. IV])

Spermien in Fruchtwasser, Farbstoffe in abgekochtem Fruchtwasser kolloidal gelöst und in einseitig offenen Kapillaren eingeschlossen.
Jeder Versuch 3–4mal wiederholt

Kapillare I	Kapillare II	Beobachtung
Fruchtwasser abgekocht	Fruchtwasser abgekocht	Gleichmäßig wenige Spermien in I und II.
Astaxanthin 60 γ je 1 cm ³	Fruchtwasser abgekocht	Spermienmenge I:II ≈ 5:1; Anhäufung besonders am geschlossenen Ende von I. In der Umgebung der Mündung von I Anhäufung und Aktivierung der Spermien.
β-Carotin 120 γ je 1 cm ³	Fruchtwasser abgekocht	Spermienmenge I:II ≈ 3:1, sonst wie Astaxanthin.
Lutein 115 γ je 1 cm ³	Fruchtwasser abgekocht	Kein Unterschied im Spermiengehalt zwischen I und II.
Astaxanthin 60 γ je 1 cm ³	β-Carotin 120 γ je 1 cm ³	Spermienmenge I:II ≈ 1,5:1; in beiden Fällen Ansammlung und Aktivierung der Spermien an der Kapillarmündung.
Astaxanthin 60 γ je 1 cm ³	Lutein 115 γ je 1 cm ³	Spermienmenge I:II ≈ 5:1; stärkste Anhäufung am geschlossenen Ende von I und II.

«trübe Flocke» die Spermien besonders stark anlockt und daß diese in ihrer Umgebung erhöht beweglich werden. Da die Eier gelb gefärbt sind, beruhten auch hier die G_I-Wirkungen wahrscheinlich auf einem Ei-farbstoff, der in der «Flocke» bevorzugt austritt.

Über die Gynogamon-I-Faktoren im Eisekretwasser

zahlreicher weiterer Tiere, und zwar ausschließlich Wirbelloser (Tab. VI), ist unseres Wissens bis heute nichts bekannt. Die von MEDEM¹ ausgeführte Analyse der G_I-Wirkungen bei marinen Schnecken und Muscheln hat gezeigt, daß diese im Eisekretwasser vermißt wer-

¹ Graf F. MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

Tabelle VI
Vorkommen von Gynogamon-I-Wirkungen im Eisekretwasser verschiedener Wirbelloser

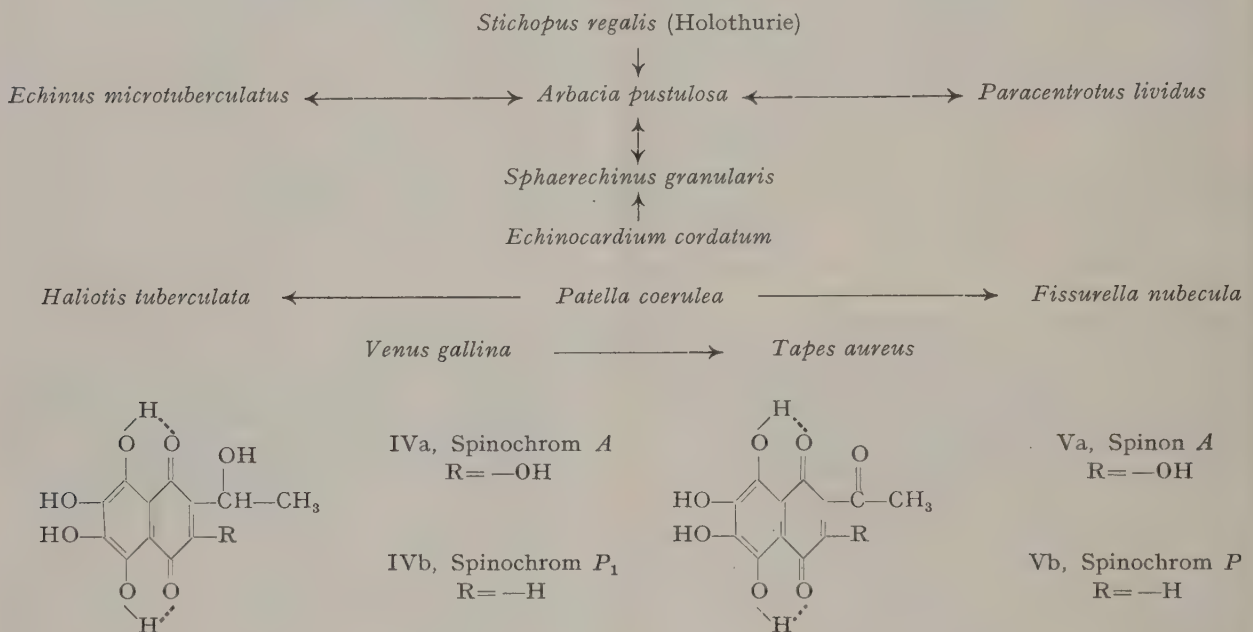
Polychäten	<i>Nereis limbata</i> <i>Platynereis megalops</i>	LILLIE (1913) ¹ ; SAMPSON (1922) ² JUST (1915) ³
Echinodermen	<i>Arbacia punctulata</i> <i>Arbacia pustulosa</i> <i>Echinus microtuberculatus</i> <i>Paracentrotus lividus</i> <i>Echinocardium cordatum</i> <i>Echinarachnius parma</i> <i>Echinometra subangularis</i> <i>Strongylocentrotus purpuratus</i> <i>Asterias forbesii</i> <i>Asterias ochracea</i> <i>Leptasterias aequalis</i> <i>Stichopus regalis</i>	LILLIE (1912) ⁴ ; SAMPSON (1922) ² ; FRANK (1939) ⁵ HARTMANN und SCHARTAU (1939) ⁶ DE MEYER (1911) ⁷ ; HARTMANN und SCHARTAU (1939) ⁶ JUST (1929) ⁸ ; HARTMANN und SCHARTAU (1939) ⁶ HARTMANN und SCHARTAU (1939) ⁶ JUST (1915) ³ SOUTHWICK (1939) ⁹ SAMPSON (1922) ² ; TYLER (1940) ¹⁰ SAMPSON (1922) ² SAMPSON (1922) ² SAMPSON (1922) ² HARTMANN und SCHARTAU (1939) ⁶
Mollusken	<i>Katharina tunicata</i> <i>Ischnochiton magdalenensis</i> <i>Mopalia muscosa</i> <i>Haliotis cracherodii</i> <i>Haliotis tuberculata</i> <i>Fissurella nubecula</i> <i>Megathura crenulata</i>	SAMPSON (1922) ² SAMPSON (1922) ² SAMPSON (1922) ² SAMPSON (1922) ² MEDEM (1942) ¹¹ MEDEM (1942) ¹¹ TYLER (1940) ¹⁰

¹ F. R. LILLIE, J. Exp. Zool. 14, 515 (1913).
² M. M. SAMPSON, Biol. Bull. 43, 267 (1922).
³ E. E. JUST, Biol. Bull. 28, 93 (1915).
⁴ F. R. LILLIE, Science (N.Y.) 36, 527 (1912).
⁵ J. A. FRANK, Biol. Bull. 76, 190 (1939).
⁶ M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).

⁷ J. DE MEYER, Arch. Biol. 26, 65 (1911).
⁸ E. E. JUST, Biol. Bull. 57, 326 (1929).
⁹ W. E. SOUTHWICK, Biol. Bull. 77, 147, 157 (1939).
¹⁰ A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 317 (1939); 26, 249 (1940); Biol. Bull. 78, 159 (1940).
¹¹ Graf F. MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

Tabelle VII
Vorkommen von Gynogamon I-Faktoren bei marinen Schnecken und Muscheln

Tierart	Eifarbe	G _I -Wirkung
<i>Fissurella nubecula</i> <i>Haliotis tuberculata</i> <i>Patella coerulea</i>	hellgrün blaugrün tiefolivgrün	Aktivierung der Spermien in Eisekretwasser. Chemotaktische Anlockung durch intakte Eier, nicht durch leere Eihüllen.
<i>Pecten varius</i> . <i>Solen ensis</i> <i>Tapes aureus</i>	braunrot (Pectenoxanthin?) schwach braungelb schwach braungelb	Keine Aktivierung im Eisekretwasser, wohl aber am Ei selbst. Chemotaktische Anlockung durch intakte Eier und leere Eihüllen, nicht durch Einhalt.



den kann, am intakten Ei indessen auftritt (Tab. VII). In neuester Zeit hat derselbe Autor¹ ein Tier mit innerer Befruchtung untersucht, nämlich die Wollhandkrabbe (*Eriocheir sinensis*). Bereits CANO² hatte an Dromiiden gefunden, daß das Sperma in den weiblichen Geschlechtswegen beweglich wird. Dieses Beweglichwerden ist, wie jetzt festgestellt werden konnte, jedenfalls bei *Eriocheir* auf den Einfluß der dunkelbraunen Ovarialflüssigkeit zurückzuführen, die zusammen mit den Eiern durch den Ovidukt zu dem im Receptaculum seminis unbeweglich lagernden Sperma gelangt. *In vitro* beginnt die Bewegung frühestens zwei Minuten nach Einbringen der Spermien in die Ovarialflüssigkeit und hält etwa 15 Minuten lang an. Diese Beobachtungen sind hier insofern von Interesse, als BIELIG³ ermittelt hat, daß die reifen, leuchtendvioletten Eier von *Eriocheir* ein Gemisch von sauren und neutralen epi- und hypophasischen Carotinoiden in symplexer Bindung an Proteine enthalten.

Über die Artspezifität der G_I-Wirkung liegen Beobachtungen von HARTMANN und SCHARTAU¹ bei einigen Seeigeln und von MEDEM² bei marinen Schnecken und Muscheln vor. Soweit die Versuche der Einwirkung von Eiern oder Eisekretwässern auf artfremde Spermien positiv verliefen, sind sie in der folgenden Übersicht vereinigt (Wirkung des G_I-Komplexes in Pfeilrichtung^{1, 2}):

TYLER³ fand, daß die kristallisierten Stachelfarbstoffe von *Strongylocentrotus purpuratus* im Gegensatz zu dessen Eisekretwasser nicht G_I-wirksam sind. Nach MUSAIO und MINCHILLI⁴ enthalten die Stacheln von *S. purpuratus* kein Echinochrom, indessen zwei ihm verwandte, als Ca-Salze gebundene Spinochrome P und P₁. KUHN und WALLENFELS⁵ geben dem Spinochrom A in den Schalen von *A. pustulosa* die Formel IVa.

¹ M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).

² Graf F. MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

³ A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 523 (1939).

⁴ L. MUSAIO und M. MINCHILLI, Boll. sci. Fac. chim. ind. Bologna 3, 113 (1942).

⁵ R. KUHN und K. WALLENFELS, Ber. dtsch. Chem. Ges. 74, 1594 (1941).

¹ Graf F. MEDEM, unveröffentlicht.

² G. CANO, Mitt. Zool. Stat. Neapel 9, 503 (1889).

³ H.-J. BIELIG, unveröffentlicht.

Das Spinochrom *A*, das in Form seines violetten Calciumsalzes beständig ist, geht, sobald diese Bindung während der Aufarbeitung durch Säure gespalten wird, unter der dehydrierenden Wirkung des Luftsauerstoffes in das kristallisiert erhaltene Spinon *A* (Va) über. An Anlehnung an diese Befunde schreiben die beiden italienischen Forscher dem Spinochrom *P*₁ die Konstitution IVb, dem Spinochrom *P* die Formel Vb zu. Das Spinon *A* konnte noch nicht auf *G*₁-Wirkungen geprüft werden.

Das Androgamon I

Der aktivierende Faktor des Gynogamon-I-Komplexes hat als Gegenspieler einen von den Spermien abgegebenen Wirkstoff, den man daher Androgamon genannt hat. Wie nämlich HARTMANN, SCHARTAU und WALLENFELS¹ zuerst beobachteten, wird die aktivierende Wirkung des Eisekretwassers von *Arbacia pustulosa* auf arteigene Spermien herabgesetzt oder völlig aufgehoben, sowohl durch Spermaliquor als auch durch Filtrate von abgekochtem bzw. gefrorenem und dann aufgetautem Sperma. Daß es sich hier tatsächlich um einen Antagonismus zwischen dem aktivierenden Prinzip und einem Spermawirkstoff handelt, geht eindeutig aus dem gleichartigen Verhalten von Echinochrom *A* hervor: 1 cm³ Spermaliquor von *A. pustulosa* vermag auch die spermienaktivierende Wirkung von 5 · 10⁻⁷ g kristallisiertem Echinochrom *A* zu verhindern.

Eine Methode zur Abtrennung des *A*₁ aus Sperma verdankt man KUHN und WALLENFELS². Die *A*₁-haltige Fraktion läßt sich aus schonend getrocknetem Sperma mit Methanol extrahieren und findet sich angereichert in dessen Abdampfrückstand wieder. Solche Auszüge aus *A. pustulosa*-Sperma lähmten die Bewegung der artigenen Spermien noch bis zu einer Verdünnung von 1:8000. Die lähmende Wirkung derartiger Extrakte ließ sich durch Echinochrom *A* aufheben. Es handelt sich hier um dieselbe Wirkung auf die Spermien, die unabhängig voneinander bereits SOUTHWICK³ bei *Echinometra subangularis* und HARTMANN und Mitarbeiter⁴ bei *A. pustulosa* mit unextrahiertem Sperma festgestellt hatten⁵. Aus diesen Arbeiten geht weiter hervor, daß die *A*₁-Wirkung reversibel ist und daß der Wirkstoff von den Spermien an den Liquor abgegeben wird. Unbeweglich gewordene Spermatozoen von *E. subangularis* werden nämlich durch Zusatz von Seewasser, was einer

Herabsetzung der Konzentration an lähmender Substanz entspricht, wieder beweglich; ein Vorgang, der sich mehrmals wiederholen läßt. Es ist wichtig, mit gereinigten *A*₁-Präparaten zu arbeiten und sich von der antagonistischen Wirkung gegenüber dem aktivierenden *G*₁-Faktor zu überzeugen, wie aus den Versuchen bei *Salmo irideus* hervorgeht¹.

Das mit Methanol extrahierte Rohandrogamon I der Regenbogenforelle, welches 0,5% des freien Spermias ausmacht, wirkt noch in einer Verdünnung von 1:1000 Spermien lähmend. Die Grenzkonzentration, in der totaler Antagonismus zum *G*₁-Komplex bei *S. irideus* besteht, liegt bei 2,4 · 10⁻⁴ g Astaxanthin auf 1 g Rohandrogamon I. Diese antagonistische Wirkung zum *A*₁ unterscheidet das Astaxanthin vom β -Carotin der Forelleneier, welches zwar die Spermien aktiviert und anlockt, den Lähmungsstoff aber nicht unwirksam zu machen vermag. Nur dem Astaxanthin kommen also alle drei Wirkungen des *G*₁-Komplexes zu. Die Auslösung der Spermienbewegung bei Forellen durch Verdünnung des Spermias mit Wasser ist allein kein sicherer Test auf Androgamon I. Nach SCHLENK und KAHMANN² sind nämlich die Forellenspermien auch in «künstlichem», d. h. rein anorganischem, *A*₁-freiem Liquor unbeweglich und die Auslösung ihrer Bewegung durch Verdünnung beruht hier einzig auf der Änderung des Gleichgewichtes an Kaliumionen zwischen Liquor und Spermatozoenschwänzen.

Im Sperma weiterer Tiere wurde *A*₁-Wirkung gefunden bei:

- Echinodermen*: *Echinus esculentus* (RUNNSTRÖM und Mitarbeiter, 1944)³
Strongylocentrotus droebachiensis (RUNNSTRÖM und Mitarbeiter, 1944)³
Mollusken: *Haliothis tuberculata* (MEDEM, 1942)⁴
Patella coerulea (MEDEM, 1942)⁴
Fissurella nubecula (MEDEM, 1942)⁴
Pecten varius (MEDEM, 1942)⁴
Solen ensis (MEDEM, 1942)⁴
Ostrea edulis (MEDEM, 1942)⁴
Tunicaten: *Ciona intestinalis* (MEDEM, 1942)⁴
Cyclostomen: *Lampræta fluviatilis* (SCHARTAU und MONTALENTI, 1941)⁵
Teleosteer: *Salmo fario* (HARTMANN und Mitarbeiter, 1947)⁶
Salmo salar (RUNNSTRÖM und Mitarbeiter, 1944)⁷
Amphibien: *Rana temporaria* (MEDEM, unveröffentlicht)

Bei *Echinocardium cordatum* und *Psammechinus miliaris* ist die Anwesenheit von *A*₁ zweifelhaft⁷. Row-

¹ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

² M. HARTMANN, O. SCHARTAU, R. KUHN und K. WALLENFELS, Naturwiss. 28, 144 (1940).

³ W. E. SOUTHWICK, Biol. Bull. 77, 147, 157 (1939).

⁴ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

⁵ Der vielfach benutzte Ausdruck «Spermaextrakte» für Filtrate von abgekochtem oder gefrorenem und aufgetautem Sperma gibt zur Verwechslung mit den Methanolextrakten aus Sperma Anlaß und wird deshalb in diesem Aufsatz nicht gebraucht. Wir vermeiden auch den Begriff «Trockensperma» für unverdünntes Sperma, weil hier eine Verwechslung mit getrocknetem Sperma naheliegt.

¹ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

² W. SCHLENK jr. und H. KAHMANN, Biochem. Z. 295, 283 (1938).

³ J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944).

⁴ F. Graf MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

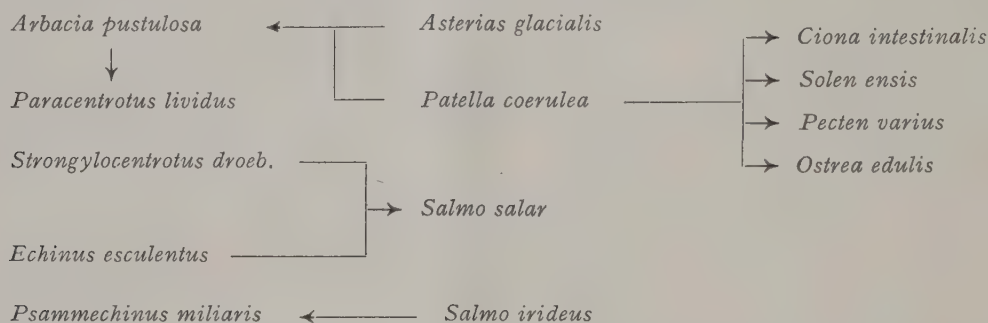
⁵ O. SCHARTAU und G. MONTALENTI, Biol. Zbl. 61, 473 (1941).

⁶ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

⁷ J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944).

LANDS¹ gibt neuerdings an, daß verdünntes Kaninchen-sperma, dem ein arteigenes Spermafiltrat zugefügt wurde, in seiner Befruchtungsfähigkeit beeinträchtigt wird. Es ist zu vermuten, daß auch diese Wirkung in erster Linie auf der Anwesenheit eines A_1 beruht und nicht, wie der Autor meint, allein der im Samen enthaltenen Hyaluronidase (Faktor des A_{II} -Komplexes) zuzuschreiben ist.

In den bisher geprüften Fällen erwies sich das A_1 als weder art-, noch gattungsspezifisch, noch ordnungsspezifisch, wie aus folgender Übersicht hervorgeht (Wirkung des A_1 in Pfeilrichtung^{2, 3, 4, 5}):



Über die bei der geringen Spezifität besonders interessante chemische Natur eines A_1 -Faktors ist bisher nichts bekannt. Das Rohandrogon I im Rückstand von Methanolauszügen aus gefroren getrocknetem Seeigelsperma wird weder durch 30minütiges Kochen mit Wasser³ noch durch ebenso langes Erhitzen mit n/HCl auf 100°² in seiner Wirkung beeinträchtigt. Al-Oxyd oder -Hydroxyd adsorbieren das A_1 stark aus wässriger Lösung².

Das Gynogamon II

Die Wirkung, die man heute dem Gynogamon II zuschreibt, nämlich die Agglutination der Spermien durch Eisekrete, ist viel diskutiert worden, seit LILLIE⁶ ihr in seiner Fertilizinthorie die maßgebliche Rolle bei der Befruchtung zuerkannte. Ihre tatsächliche Stellung innerhalb des Befruchtungsgeschehens ließ sich indes erst klarer beurteilen, nachdem HARTMANN und Mitarbeiter^{7, 8} das Agglutinin genannte Prinzip der Eier erstmals beim Seeigel *Arbacia pustulosa* von Wirkungen des G_1 -Komplexes abzutrennen vermochten.

Nach LILLIE⁹ geht die Agglutination der Spermien

durch das Eisekretwasser von *Arbacia* Hand in Hand mit deren Aktivierung und Chemotaxis. Diese Wirkungen des Eisekretwassers kommen nach HARTMANN, SCHARTAU, KUHN und WALLENFELS^{1, 2} dem vom Ei abgegebenen ternären Symplex, Echinochrom-...-Träger...-Hilfsträger zu. Bei der Dialyse dieses Symplexes gegen destilliertes Wasser bleibt der Hilfsträger, wie früher erwähnt, ausschließlich der Gallerthülle entstammend, in Lösung, während der Farbstoff als binärer Symplex ausfällt. Die farblose Lösung des Hilfsträgers vermag die Spermien nicht mehr zu aktivieren, hat dagegen noch die volle Agglutinationswirkung des ternären

Symplexes. Der Hilfsträger ist also bei *A. pustulosa* das G_{II} -wirksame Agglutinin und in seinen Wirkungen identisch mit dem Fertilizin LILLIES. Bei der Verdünnung des Eisekretwassers von *Arbacia* nimmt die Wirkung des Agglutinins rascher ab als die des Gynogamons I; durch zweistündiges Erhitzen auf 95° wird sie völlig zerstört (Tab. VIII). Aus seiner Lösung fällt

Tabelle VIII

Vergleich von Spermienagglutination und -aktivierung in nativem und erhitztem Eisekretwasser von *Arbacia pustulosa* (nach HARTMANN und SCHARTAU³, abgeändert)

Agglutinationsstärke 0–IV; Aktivationsgrade 0–3. Eisekretwasser: Stammlösung 1 Teil Eier auf 5 Teile Seewasser. Erhitzungsdauer: 2 Stunden 95°

Verdünnungsgrad	Natives Eisekretwasser		Erhitztes Eisekretwasser	
	Agglutination	Aktivierung	Agglutination	Aktivierung
1:100	IV	3	0	3
1:1000	III	3	0	3
1:10000	II	3	0	3
1:30000	I	3	0	2
1:50000	0	3	0	1

der Hilfsträger mittels Ammonsulfat, anderen Sulfaten oder n/100 Salzsäure aus. Die Fällung enthält 8,5% Stickstoff und hat den Charakter einer Säure von Äquivalentgewicht etwa 500. Aus dem mit verdünnter Salzsäure gewonnenen Hydrolysat läßt sich mit Phosphor

¹ I. W. ROWLANDS, Nature (London) 154, 332 (1944).

² J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944).

³ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

⁴ F. Graf MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

⁵ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

⁶ F. R. LILLIE, Science (N.Y.) 38, 524 (1913).

⁷ M. HARTMANN, O. SCHARTAU, R. KUHN und K. WALLENFELS, Naturwiss. 27, 433 (1939); 28, 144 (1940).

⁸ M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).

⁹ F. R. LILLIE, J. Exp. Zool. 14, 515 (1913).

¹ M. HARTMANN, O. SCHARTAU, R. KUHN und K. WALLENFELS, Naturwiss. 27, 433 (1939); 28, 144 (1940).

² R. KUHN und K. WALLENFELS, Ber. dtsh. Chem. Ges. 73, 4 (1940).

³ M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).

Tabelle IX

Agglutinationsgrade der Spermien der Regenbogenforelle unter der Einwirkung von Rohagglutinin
 Stammlösung: 9,6 mg Rohagglutinin je 1 cm³ 1%iges Natriumchlorid Verdünnung mit Wasser. Agglutinationsgrade (subjektiv): I–IV
 (nach HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG¹)

Konzentration an Rohagglutinin (g je cm ³)	Beobachtete Agglutinationsstufen der Spermien
9,6 · 10 ⁻³	Grad IV. Stärkste Agglutination. Sperma sofort «geronnen»; völlig bewegungslos; z. T. an der Sonde haftend. Streifen und Haufen schon makroskopisch erkennbar.
2,4 · 10 ⁻⁵	Grad III. Starke Agglutination. Sofort beginnende Ausbildung ausgedehnter dicker Netze (Eisblumenmuster). Spermien z.T. in den Netzen noch bis zu 30 Sekunden zitternd. Die Netzbildung nimmt bis zu 1 Minute dauernd zu, wobei die Netzfäden schrumpfen und reißen.
4,8 · 10 ⁻⁷	Grad II. Mittelstarke Agglutination. Nach 20 Sekunden beginnende Ausbildung dünner Netze, die bis zu 90 Sekunden anhält. Die Netze schrumpfen und reißen. — Vor Beginn der Agglutination entfalten die Spermien eine ungehemmte, freie Aktivität (Aktivitätsgrad 2). Nach Beginn der Agglutination bewegen sie sich innerhalb und außerhalb der Netze noch bis zu 1 Minute an Ort.
4,8 · 10 ⁻⁹	Grad I. Schwache Agglutination. 25–30 Sekunden nach Einbringen des Spermas beginnende Bildung von Agglutinationsfäden. Vor Beginn der Agglutination sind die Spermien voll aktiv (Aktivitätsgrad 2); z.T. findet lose Zusammenlagerung (Adhäsion) statt. Das Ende der Spermienbewegung fällt mit der vollen Ausbildung der Agglutinationsfäden zusammen (1 Minute).
4,8 · 10 ⁻¹⁰	Keine Agglutination. Verhalten der Spermien wie in Wasser: Aktivitätsgrad 1–2; 20 Sekunden. Mit Verlangsamung der Bewegung beginnt lose Zusammenlagerung (Adhäsion) der Spermatozoen, aus der sich diese bei Berührung wieder lösen. Gesamtbewegungsdauer: 35–40 Sekunden.

phorwolframsäure eine stickstoffreiche Base abscheiden, wobei ein aminosäurehaltiges Filtrat zurückbleibt². Das Agglutinin aus den Eihüllen von *Strongylocentrotus purpuratus* verhält sich nach TYLER und FOX³ ähnlich. Es wird durch proteolytische Fermente inaktiviert.

In einer bemerkenswerten Arbeit beschreibt POPA⁴ die mikroskopisch erkennbaren Veränderungen, welche die Spermien von *Arbacia* im Verlaufe der Agglutination erfahren: 1. bildet sich unter dem Einfluß des Eisekretwassers an der Spitze des Spermakopfes für eine Minute eine Mikropyle aus, durch die eine klebrige Substanz als Flocke austritt (mit diesen Flocken haften die noch beweglichen Spermien aneinander [reversible Phase der Agglutination]); 2. löst sich die zytoplasmatische, lipophile, den Kern umgebende Hülle allmählich ab und häuft sich als «Lateralkörper» am Kopf des Restspermiums an. In dieser irreversiblen Phase der Agglutination werden die Spermien unbeweglich (Abb. 1).

Bei *Salmo irideus*⁵ ist der Träger der Agglutinationswirkung im Gegensatz zu *Arbacia* nicht in der Eihülle,

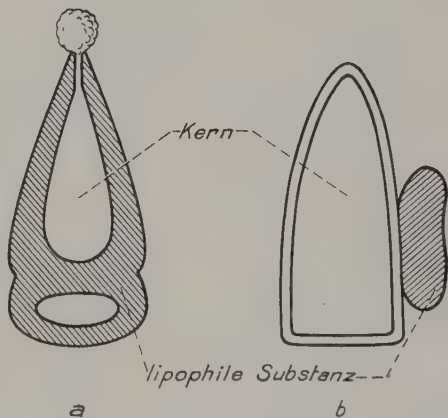


Abb. 1. Veränderungen von *Arbaciaspermien* bei der Agglutination (nach POPA¹).
 a Bewegliches Spermium mit Mikropyle und Flocke.
 b Irreversibel unbewegliches Spermium mit Lateralkörper.

sondern im Eiinnern enthalten. Das Agglutinin wird von dort an das Fruchtwasser abgegeben. Während natives Fruchtwasser die Aktivität der Forellenspermien erhöht und ihre Bewegungsdauer erheblich verlängert, tritt in verdünntem Fruchtwasser starke, irreversible Agglutination der Spermatozoen ein. 1%iges Na-Chlorid verhindert diese Koagulation. Durch zwei

¹ Vgl. Note 1, Tab. IV.
² R. KUHN und K. WALLENFELS, Ber. dtsch. Chem. Ges. 73, 458 (1940).
³ A. TYLER and S. W. FOX, Science (N.Y.) 90, 516 (1939).
⁴ G. T. POPA, Biol. Bull. 52, 233 (1927).
⁵ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

¹ G. T. POPA, Biol. Bull.. 52, 233 (1927).

minutiges Kochen des Fruchtwassers wird die G_{II} -Wirkung vernichtet.

KUHN und BIELIG¹ haben das *Forellenagglutinin* aus der wässrigen Eiflüssigkeit durch wiederholtes Umfällen zunächst mit Wasser, dann mit 30%igem Azeton und Lösen in 1%igem Na-Chlorid angereichert und durch Dialyse gegen Wasser abgeschieden. 7500 (= 350 g) Eier ergaben 56 g Rohagglutinin in Lamellen, d. h. 47% des Eitrockengewichts. Das Regenbogenforellenagglutinin hat die Eigenschaften eines Eiweißkörpers von Globulinnatur. Es ist thermolabiler als der *Arbacia*-hilfsträger, unlöslich in Wasser, aber löslich in verdünnten Salzlösungen und in verdünnten Säuren und Laugen. Halbsättigung mit Ammonsulfat schlägt das G_{II} nieder. Die Lösung in 1%igem Na-Chlorid reagiert mit nukleinsaurem Natrium und mit Agar-Agar unter Fällung. In seiner elementaren Zusammensetzung und seinem Gehalt an gebundenem Zucker und Phosphatiden ähnelt es den *Ichthulinen*, die aus vielen Fischeiern erhalten worden sind². Das Trockenpräparat wird zunehmend schwerer löslich. Die schwerlösliche Form entspricht einem Globulan³. Das Rohagglutinin wirkt noch in einer Verdünnung von 1:5 Milliarden auf die Spermatozoen der Regenbogenforelle. Die einzelnen Stufen der Agglutination bei abnehmender Konzentration des Wirkstoffes zeigt Tab. IX. Nichtdialysiertes Rohagglutinin, das BIELIG und MEDEM⁴ 1948 aus den Eiern zweijähriger Regenbogenforellen bereiteten, wirkte mehr als 1000mal schwächer agglutinierend auf die Spermien gleichaltriger Männchen als das im Vorjahre dargestellte, eben beschriebene Präparat aus den Eiern vierjähriger Tiere. Die Agglutination des Eiinhalts war indessen beidmalig annähernd dieselbe. Nach Untersuchungen von BERGOLD, BIELIG und MEDEM⁵ mittels der Ultrazentrifuge besteht das Rohagglutinin aus zwei Komponenten mit $S_{20} = 3,4$ und $= 7,3$. Bei Annahme von Sphäroproteiden entspricht dies Molekulargewichten von ~ 35000 und ~ 70000 . Nach 10minutigem Kochen der Lösung in 0,5 Mol Na-Hydrogenkarbonat ist die Komponente mit dem kleineren Molekulargewicht parallel mit dem Ausbleiben der Agglutinationswirkung verschwunden.

Die Bachforelle⁶ unterscheidet sich hinsichtlich der Agglutination dadurch von *Salmo irideus*, daß zwar der verdünnte Eiinhalt, nicht aber das Eisekretwasser die Spermien zusammenballt. Ähnlich findet bei den Muscheln *Pecten varius* und *Solen ensis* Agglutination nur direkt an den intakten Eiern statt⁷. Beim Flußneunauge⁸ folgen Aktivierung und Agglutinierung der

Spermien durch Eisekretwasser zeitlich aufeinander. Die Spermien verkleben bei der Agglutination nicht wie bei *S. irideus* unter Ausbildung von Netzen, sondern lagern sich strahlenförmig mit den Schwänzen an zentral geballtes Sperma an.

Eingehend untersucht haben TYLER und Mitarbeiter das Gynogamon II der Schnecke *Megathura crenulata*. Dieses hochmolekulare Agglutinin, welches Eiweißreaktionen gibt, wird durch Dialyse, Adsorption an Ca-Karbonat und Fällung des Seewassereluats mit Ammonsulfat gereinigt. Von den bisher beschriebenen Agglutininen unterscheidet sich das *Megathura*agglutinin durch seine außerordentliche Thermostabilität. 24stündiges Kochen bei p_H 3 inaktiviert nur zu 50%. Das Agglutinin ist in destilliertem Wasser instabil und wird durch proteolytische Fermente zerstört.

Hinsichtlich der Erforschung der G_{II} -Wirkstoffe bei Säugetieren verdient eine Arbeit von POPA² besondere Erwähnung, die die agglutinierende Wirkung von *Follikelflüssigkeit* auf Säugetierspermien beschreibt. In der zellfreien Flüssigkeit GRAAFScher Follikel von Kuh, Schaf und Schwein werden arteigene, aus Hoden, Nebenhoden oder Samenblasen gewonnene Spermien 1–20 Minuten nach dem Einbringen zu durchscheinenden, bröckligen Coagula zusammengeballt. Das Agglutinin, welches wahrscheinlich vom Ei abgegeben wird, wird durch Erhitzen auf 56° inaktiviert. Eine Agglutination findet auch an gekochtem Sperma statt, fehlt aber im Spermaliquor. Sie soll in einer Reaktion zwischen den Lipoiden der Spermienoberfläche und dem Agglutinin der Follikelflüssigkeit bestehen. Andere lipoidhaltige Gewebe, z. B. Gehirn, Schilddrüse und Subkutanfett, geben die als «Lipogelreaktion» bezeichnete Umsetzung nämlich ebenso wie reines Kephalin, während Eialbumin nicht reagiert.

Die folgende Zusammenstellung gibt eine Übersicht über weitere Tierarten, bei denen *Agglutination art eigener Spermien* im Eisekretwasser oder am Ei selbst beobachtet wurde, über deren agglutinierendes Prinzip aber nichts Genaueres bekannt ist.

<i>Polychäten:</i>	<i>Nereis limbata</i> (LILLIE, 1913, JUST, 1915; SAMPSON, 1922, POPA, 1927 ^{3,4,5,6})
	<i>Platynereis megalops</i> (JUST, 1915 ⁴)
<i>Echinodermen:</i>	<i>Arbacia punctulata</i> (LILLIE, 1913; SAMPSON, 1922 ^{3,5})
	<i>Echinarachnius parma</i> (JUST, 1919 ⁷)
	<i>Echinus microtuberculatus</i> (JUST, 1929 ⁸)
	<i>Strongylocentrotus purpuratus</i> (TYLER und Fox, 1939 ⁹)

¹ A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 317 (1939); 26, 247 (1940); Biol. Bull. 73, 159 (1940). – A. TYLER und S. W. Fox, Science (N.Y.) 90, 516 (1939).

² G. T. POPA, Biol. Bull. 52, 223 (1927).

³ F. R. LILLIE, J. Exp. Zool. 14, 515 (1913).

⁴ E. E. JUST, Biol. Bull. 28, 93 (1915).

⁵ M. M. SAMPSON, Biol. Bull. 43, 267 (1922).

⁶ G. T. POPA, Biol. Bull. 52, 238 (1927).

⁷ E. E. JUST, Biol. Bull. 36, 11 (1919).

⁸ E. E. JUST, Biol. Bull. 57, 326 (1929).

⁹ A. TYLER und S. W. Fox, Science (N.Y.) 90, 516 (1939).

¹ Vgl. Note 6 von S. 21.

² Vgl. die Übersicht bei J. NEEDHAM, Chemical Embryologie I, 323 (1933).

³ Vgl. C. T. MÖRNER, Z. physiol. Chem. 40, 429 (1904).

⁴ H.-J. BIELIG und F. Graf MEDEM, unveröffentlicht.

⁵ G. BERGOLD, H.-J. BIELIG und Graf F. MEDEM, unveröffentlicht.

⁶ M. HARTMANN, F. Graf MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

⁷ F. Graf MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

⁸ O. SCHARTAU und G. MONTALENTI, Biol. Zbl. 61, 473 (1941).

den durch Rinderserum und durch Serumalbumin (Hammel) zur Agglutination gebracht¹. Von ROSENTHAL² wurde schließlich eine agglutinierende Wirkung beschrieben, die aus Faeces isolierte Stämme von *Escherichia coli* auf menschliche und Rattenspermien ausüben. Vielleicht geht auch die von KATO³ beobachtete Agglutination verschiedener Säugetierspermien durch Vaginalsekrete auf die Anwesenheit solcher sehr thermolabiler Bakterienagglutinine zurück.

Der Androgamon-II-Komplex

Der Faktor, den HARTMANN, SCHARTAU und WALLENFELS⁴ bei *Arbacia pustulosa* ursprünglich Androgamon II nannten, findet sich in der Nukleoproteidfraktion, die zurückbleibt, wenn man aus schonend getrocknetem Sperma die A_{II} -haltige Fraktion mit Methanol herauslöst. Die A_{II} -Fraktion vermag folgende Wirkungen zu entfalten: 1. eine antagonistische Wirkung gegenüber dem Gynogamon II (Isoagglutinin); 2. eine Auflösung der Eihülle; 3. eine Fällung der Eihülle, die auch die Ursache einer häufiger beobachteten, irreversiblen Agglutination der Eier sein dürfte.

Eine abschwächende Wirkung von nativem Seeigelsperma auf die Agglutination durch Eisekretwasser war bereits DE MEYER⁵ und LILLIE⁶ bekannt. Eingehend studiert wurde dieses Phänomen bei Wirbellosen indessen erst von FRANK⁷ (*Arbacia punctulata*), SOUTHWICK⁸ (*Echinometra subangularis*), TYLER⁹ (*Megathura crenulata*) und vor allem von HARTMANN, SCHARTAU und WALLENFELS¹⁰ (*Arbacia pustulosa*). Nach diesen Arbeiten vermögen auch filtrierte Kochsäfte und Seewasserauszüge aus gefrorenem Sperma das in den jeweiligen Eisekretwassern enthaltene Agglutinin unwirksam zu machen.

Soweit bisher geprüft, sind die G_{II} -antagonistische und die fällende oder lösende Wirkung primär vergesellschaftet. Dies gilt für das Sperma des Seeigels *A. pustulosa*¹⁰, der Schnecken *Megathura crenulata*⁹, *Halio. tuberculata*, *Fissurella nubecula*, der Muschel *Pecten varius*¹⁰ und der Forelle *Salmo irideus*¹¹. Das Sperma der Bachforelle¹² u. des Flußneunauges¹³ wurde bisher

nur auf die G_{II} -antagonistische Wirkung hin untersucht und diese bestätigt gefunden.

Die fällende und die lösende Wirkung auf die Eihülle können gemeinsam im Spermaauszug gefunden werden oder dieser enthält, soweit bekannt, nur die eine oder die andere Wirkung.

Es wurden beobachtet: a) fällende Wirkung und *Eiagglutination* gleichzeitig bei *Echinocardium cordatum*, *Psammechinus miliaris*, *Strongylocentrotus droebachiensis* und *Echinus esculentus*¹; b) nur Eiagglutination bei *Arbacia punctulata*² und *Strongylocentrotus purpuratus*³; c) nur die lösende Wirkung auf die Gallerthüllen bei *Arbacia pustulosa*, *Paracentrotus lividus*, *Echinus microtuberculatus*⁴, *Megathura crenulata*, *Haliotis cracherodii*⁵, *H. tuberculata*, *Fissurella nubecula*, *Pecten varius*⁶; d) nur die fällende Wirkung auf die Eihüllen bei *Salmo irideus*⁷.

1940 fand TYLER⁵ bei *Megathura crenulata*, daß durch zweiminütiges Erhitzen von kaltbereiteten Spermaauszügen auf 60° die eihüllenlösende Wirkung zerstört wird, während die Anti- G_{II} -Wirkung erhalten bleibt. MONROY und RUFFO⁸ zeigten später, daß sich aus dem Sperma von *Arbacia pustulosa* (syn. *A. lixula*) ein eihüllenlösendes Prinzip abtrennen läßt, das nun umgekehrt das Eiagglutinin nicht mehr inaktiviert. Dieser Stoff erwies sich als ein mucinspaltendes, viskositäterniedrigendes Ferment, eine *Hyaluronidase*. Er unterscheidet sich durch seine Thermolabilität — fünfminütiges Erhitzen auf 100° inaktiviert total — von einem ebenfalls gallertlösenden Faktor, den WALLENFELS⁹ schon 1940 aus getrocknetem, methanolextrahiertem Sperma angereichert hatte, der aber auch durch fünfstündige Einwirkung von 98° in seiner Wirkung nicht beeinträchtigt wird. In diesem Zusammenhang ist von Bedeutung, daß McCLEAN und HALE¹⁰ auch Azoproteine sowie Ascorbinsäure und deren Oxydationsprodukte befähigt gefunden haben, ähnlich viskositäterniedrigend zu wirken wie Hyaluronidase, und zwar ohne reduzierende Gruppen aus Hyaluronsäure freizulegen.

Wir haben es nach dem Gesagten also in den Spermaauszügen mit verschiedenen Stoffen zu tun, die die eine oder die andere der ursprünglich dem A_{II} zugeschriebenen Wirkungen entfalten (A_{II} -Komplex). TYLER¹¹ nimmt an, daß die G_{II} -antagonistische Wirkung und die gallerthüllenlösende Wirkung im Sperma von *Mega-*

¹ H.-J. BIELIG und Graf F. MEDEM, unveröffentlicht.

² L. ROSENTHAL, J. Bacteriol. 45, 545 (1943).

³ K. KATO, Mem. Faculty Sci. Taihoku Imp. Univ. 19, 1 (1936).

⁴ K. WALLENFELS, Österr. Chem.-Ztg. Nr. 19/20 (1940).

⁵ J. DE MEYER, Arch. Biol. 26, 65 (1911).

⁶ F. R. LILLIE, J. Exp. Zool. 14, 515 (1913).

⁷ J. A. FRANK, Biol. Bull. 76, 190 (1939).

⁸ W. E. SOUTHWICK, Biol. Bull. 77, 147, 157 (1939).

⁹ A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 317 (1939); 26, 249 (1940); Biol. Bull. 78, 159 (1940).

¹⁰ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

¹¹ Graf F. MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

¹² M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b 350 (1947).

¹³ J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944). — O. SCHARTAU und G. MONTALENTI, Biol. Zbl. 61, 17 (1941).

¹ Vgl. Note 13, 1. Kol.

² J. A. FRANK, Biol. Bull. 76, 190 (1939).

³ A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 317 (1939); 26, 249 (1940); Biol. Bull. 78, 159 (1940).

⁴ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

⁵ A. TYLER, 26, 249 (1940); Biol. Bull. 78, 159 (1940).

⁶ F. Graf MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

⁷ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Naturwiss. 34, 25 (1947); Z. Naturforsch. 2b 330 (1947).

⁸ A. MONROY und A. RUFFO, Nature (London) 159, 603 (1947).

⁹ K. WALLENFELS, Österr. Chem.-Ztg. Nr. 19/20 (1940).

¹⁰ D. McCLEAN und C. V. HALE, Biochem. J. 35, 159 (1941).

¹¹ A. TYLER, 26, 249 (1940); Biol. Bull. 78, 159 (1940).

hura crenulata entsprechend den Anschauungen der Immunchemie wie thermostabiler Antikörper und thermolabiles Agens zum Komplement vereinigt sind.

Es seien im folgenden die Methoden beschrieben, die zur Anreicherung der eihüllenlösenden Wirkung des A_{II} -Komplexes von WALLENFELS¹ thermostabiler A_{II} -Faktor) und von MONROY und RUFFO² (thermolabiler A_{II} -Faktor) benutzt wurden.

WALLENFELS¹ fällt die natronalkalische Lösung der durch Hitzenicht koagulierbaren Nukleoproteidfraktion von A_I -freiem *Arbaciasperma*, fraktioniert mit Phosphorwolframsäure. Die ersten Fällungen enthalten die gesamte Wirksamkeit. Beim Zerlegen mit Baryt geht das A_{II} in die wässrige Lösung. Es ist nicht dialysierbar und wird nicht von Essigsäure oder Methanol gefällt. Von dem Trockenpräparat, einem farblosen, 9% Stickstoff enthaltendem Lack lösen 0,5 mg in 1 cm³ Seewasser bzw. damit isotonischem Na-Chlorid die Gallerthülle eines Eies von *A. pustulosa* in 30 Sekunden vollständig auf (Tab. X). Löste man dieselbe Menge in 1 cm³ mit Seewasser isotonischem Ca-Chlorid, so betrug die Auflösungszeit für die Eigallerte 3 Minuten. Cu-2-Chlorid und K-Cyanid hemmen die Wirkung des thermostabilen A_{II} -Faktors nicht.

Tabelle X

Lösung der Eigallerte von *Arbacia pustulosa* durch arteigenen gereinigten eihüllenlösenden thermostabilen A_{II} -Faktor* (nach HARTMANN, SCHARTAU und WALLENFELS³, abgeändert).

A_{II} -Faktor je cm ³ Seewasser	Einwirkungszeit und Effekt
$5 \cdot 10^{-4}$	Eigallerte in 30–40 Sekunden total gelöst
$1 \cdot 10^{-4}$	Eigallerte in etwa 5 Minuten total gelöst
$2,5 \cdot 10^{-5}$	Eigallerte nicht mehr gelöst, aber gelockert
$5 \cdot 10^{-6}$	Kein Unterschied mehr zu Seewasser allein

* Reinigungsstufen vgl. im Text.

II. MONROY und RUFFO² verwenden die von CLAUDE und DURAN-REYNALS⁴ angegebene Technik zur Extraktion der Hyaluronidase aus Stierhoden. Das homogenisierte Sperma von *A. pustulosa* oder *Sphaerechinus granularis* wird mit n/10 Essigsäure ausgezogen, der Extrakt mit Azeton gefällt und die Fällung im Vakuum getrocknet. Nach Aufschlämmen in 0,85%igem Na-Chlorid werden 60% des Trockenpräparates als unlöslicher Niederschlag abzentrifugiert. Die Lösung, welche 15 mg Trockensubstanz je 10 cm³ enthält, löst die Eihüllen unbefruchteter, arteigener Eier unter vorhergehender Quellung, in 10 bis 15 Min. auf. Diese Wirkung ist rund 60mal geringer als die des gereinigten thermostabilen Faktors von WALLENFELS¹. Indessen ist die angewandte Fällung mit Azeton nach Befunden

von FAVILLI und BERGAMINI¹ nicht günstig, da sie die Extraktion des Ferments aus dem Trockenpulver erschwert. Die *Arbaciahyaluronidase* wird weder durch Dialyse noch durch arteigenes Eisekretwasser inaktiviert.

Den Ausgangspunkt für die beschriebene Untersuchung auf Hyaluronidase bei *Arbacia* bildete die 1942 von McCLEAN und ROWLANDS² gefundene Beziehung dieses Ferments zum Befruchtungsvorgang bei *Säugetieren*³. Angereicherte Auszüge aus Säugetiersperma oder -hoden sind danach befähigt, die das Säugerei nach der Ovulation in der Tube umgebenden Follikelzellen abzulösen und so den Spermien den Weg zum Ei freizugeben. Diese Reaktion wird durch homologes oder heterologes Blutserum gehemmt⁴, was nach HAAS⁵ auf der Anwesenheit eines Antiinvasins I im Plasma beruht, das Hyaluronidase verschiedenster Herkunft zerstört. Die Wirkung der Sera folgender Individuen nimmt gegenüber Stierhodenhyaluronidase in der Reihenfolge Ratte, Küken, Kaninchen, Pferd, Limulus, Mensch, Kuh ab⁶.

Die Darstellung mehr als 10000fach angereicherter Hyaluronidasepräparate aus Stierhoden beschreibt HAHN⁷ nach Vorarbeiten von MORGAN und McCLEAN⁸, MADINAVEITIA⁹ und FAVILLI und BERGAMINI¹⁰.

Hodentrockenpulver wird mit n/10 Essigsäure extrahiert, einer fraktionierten Ammonsulfatfällung unterworfen, wobei das Ferment bei 70%iger Sättigung niedergeschlagen wird. Durch Zusatz von Cu-Sulfat, Halbsättigung mit Na-Chlorid und fraktionierte Pb-Azetatfällung werden weitere unwirksame Proteine abgetrennt. Nach dieser Stufe sind etwa 80% der Aktivität erhalten und noch annähernd 3,5% der ursprünglichen Stickstoffmenge. Die fraktionierte NH⁴- und Pb-Fällung werden wiederholt. Das danach 300fach angereicherte, noch uneinheitliche Produkt wird durch Elektrophorese auf 10000fach konzentriert. Es zeigt dann in der Ultrazentrifuge eine mittlere Sedimentationskonstante von $S_{20} = 4,60$ gegenüber 4,29 der aktiven Komponente.

Das Präparat ist noch in einer Verdünnung von 1:10⁷ mucolytisch wirksam, die Hydrolyse von Hyaluronsäure indessen nicht mehr vollständig, woraus auf begleitende Enzyme in den Rohpräparaten geschlossen wird.

Der isoelektrische Punkt liegt bei p_H 5,7; das p_H -Optimum bei 5,5. Zunehmende Ionenstärke vermindert

¹ F. FAVILLI und M. BERGAMINI, Biochem. Z. 313, 243 (1942).

² D. McCLEAN und I. W. ROWLANDS, Nature (London) 150, 627, (1942).

³ Vgl. die Zusammenfassung über Hyaluronidase (Mucinase. Spreading Factor) bei F. DURAN-REYNALS, Ann. Rev. Biochem. 13, 34 (1944).

⁴ D. McCLEAN, J. Pathol. Bacteriol. 54, 284 (1942). – E. FEKETE und F. DURAN-REYNALS, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 52, 119 (1943). – S. L. LEONARD und R. KURZROK, Endocrinol. 37, 171 (1945).

⁵ E. HAAS, J. biol. Chem. 163, 63, 89, 101 (1946).

⁶ S. L. LEONARD und R. KURZROK, Endocrinol. 39, 85 (1946).

⁷ L. HAHN, Ark. Kemi Mineral. Geol. 19A, n:r 35 (1944); Biochem. Z. 315, 83 (1943).

⁸ W. T. J. MORGAN und D. McCLEAN, J. Chem. Soc. Ind. 51, 912 (1932).

⁹ J. MADINAVEITIA, Biochem. J. 35, 447 (1941).

¹⁰ F. FAVILLI und M. BERGAMINI, Biochem. Z. 313, 243 (1942).

¹ K. WALLENFELS, Österr. Chem.-Ztg. Nr. 19/20 (1940).

² A. MONROY und A. RUFFO, Nature (London) 159, 603 (1947).

³ M. HARTMANN, O. SCHARTAU, R. KUHN und K. WALLENFELS, Z. 308, 398 (1940).

⁴ A. CLAUDE und F. DURAN-REYNALS, J. Exp. Med. 65, 661 (1937).

die Aktivität des Enzyms¹. Ascorbinsäure und Dicoumarin hemmen die Hyaluronidase mit 10 mg% um 25 bzw. 35%; phosphoryliertes Hesperidin und Germanin mit 1 mg% zu 65 bzw. 75%². Ein Antagonist des Spreading-Faktors ist ferner Heparin³, das nach SWYER⁴ mit 6,6 mg% die Wirkung des Ferments total aufhebt. Salizylsäure ist *in vitro* unwirksam, Azetylsalicylsäure wirkt schwach hemmend⁴.

Als Substrat zur Bestimmung der Aktivität der Hyaluronidase wird im allgemeinen Hyaluronsäure angewandt. Es sind Darstellungen reiner Präparate aus Glaskörper⁵, Nabelschnur⁶ und Placenta⁷ beschrieben.

Zur Ermittlung des Hyaluronidasegehaltes wurden zahlreiche Methoden beschrieben:

1. Die Messung des Spreading-Effekts in der Haut von Kaninchen und Meerschweinchen⁸.

2. Die Bestimmung der viskositätsniedrigenden Wirkung auf Hyaluronsäure⁹. 1 viskositätsreduzierende Einheit (VRU) ist diejenige Konzentration an Enzym in 0,5 cm³ Lösung, die die Viskosität von 2,5 cm³ einer Lösung aus 4 Vol. 0,2%igem K-Hyaluronat und 1 Vol. 1-Mol-Zitratpuffer vom p_H 4,6 bei 34° nach 20 Min. Einwirkung auf die Hälfte des Kontrollansatzes mit hitzeinaktiviertem Enzym herabsetzt. Nach der Abwandlung der Methode durch SWYER und EMMENS⁹ ist 1 Hyaluronidaseeinheit = 53,5 VRU.

3. Der MCP-Test, der die Fähigkeit der Hyaluronidase benutzt, die durch Essigsäure hervorgerufene Mucinballung in einem Substrat aus Hyaluronsäure und Serumalbumin zu verhindern¹⁰.

4. Die Bestimmung der reduzierenden Substanzen (N-Azetyl-glucosamin, Glukuronsäure), die unter Wirkung des Ferments aus Hyaluronsäure gebildet werden¹¹.

5. Eine Methode zur Bestimmung der Trübungsabnahme, die Hyaluronidase auf mit Essigsäure gefällte Hyaluronsäure in Gegenwart von Serumalbumin bewirkt¹². 2 TRU (Turbidity Reducing Unit) = 1 VRU.

6. Die Standardisierung im Ratteneiertest¹³. 1 Rat-

Ova-Einheit ist die Menge an Enzym in 0,2 cm³ Ringe Lösung, die die Follikelzellen von 50% der vorliegenden Eier in $\frac{3}{4}$ bis 1 Stunde ablöst.

Zur Bestimmung der Hyaluronidase im Sperma eignen sich vor allem die Methoden 2, 5 und 6. Es wurden gefunden, daß eine direkte Beziehung zwischen Fermentgehalt und Spermiedichte bei Kaninchen, Stier, Mensch und Eber besteht. 100 Millionen Spermatozoen je 1 cm³ Samen dieser Individuen enthalten 1070, bzw. 375, bzw. 21, bzw. 11 VRU¹. Ein Rattenhoden enthält etwa 5 VRU². 75% der Hyaluronidase im Kaninchensperma ist an die Spermatozoen gebunden, der Rest im Spermaliquor gelöst³. Die Spermien machen das Ferment nur aus seiner Bindung frei; sie bilden selbst keine Hyaluronidase. Diese entstammt wahrscheinlich dem Epithel der Tubuli seminiferi des Hodens³. Männer mit Azoospermie lassen das Enzym im Sperma ebenso vermissen⁴ wie Kaninchenhoden in der Präpubertät und bei Kryptorchismus¹. Der Gehalt an Hyaluronidase im Hundesperma ist gering und unabhängig von der Spermiedichte, der des Hahnsperma gleich 0¹. In Hoden zahlreicher Reptilien fand SWYER ebenfalls keine Hyaluronidase. Dies ist hinsichtlich des Befruchtungsvorganges insofern von Bedeutung, als soweit bisher bekannt, bei Vögeln und Reptilien die Eier nicht von Follikelzellen umgeben sind.

RUNNSTRÖM und Mitarbeiter⁶ haben den A_{11} -Faktor, der auf die Eihüllensubstanz bei den oben angegebenen Seeigeln fäallend wirkt, auf folgende Weise angereichert: *Echinocardium*sperma wird tief gefroren in Vakuum getrocknet, mit Methanol extrahiert, in Seewasser suspendiert 5 Minuten auf 90° erhitzt, Ungelöstes abzentrifugiert und die Lösung der Elektrophorese unterworfen. Die wirksame Fraktion wandert einheitlich zur Anode, ist thermostabil, nicht dialysierbar, aber fällbar mit Ammonsulfat. Das Molekulargewicht liegt bei 10000. Nach diesen Eigenschaften, der UV-Absorption bei 260 m μ und der positiven Kohlehydratreaktion scheint es sich um ein Nukleoprotein zu handeln. Trypsin vernichtet die fäallende Wirkung.

HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG⁷ berichteten, daß das gereinigte Gynogamon II aus Forelleneiern durch Nukleinsäure gefällt wird. BIELIG und MEDEM konnten neuerdings ferner feststellen, daß Thymonukleinsäure die agglutinierende Wirkung des Gynogamons auf die Spermien der Regenbogenforelle aufheben. Sie fanden unter der Annahme, daß das Molekulargewicht

¹ A. DORFMAN und M. L. OTT, J. biol. Chem. 172, 367 (1948).

² J. M. BEILER und G. J. MARTIN, J. biol. Chem. 171, 507 (1947); 174, 31 (1948).

³ K. MEYER, Physiol. Rev. 27, 335 (1947).

⁴ G. I. M. SWYER, Biochem. J. 42, 28 (1948).

⁵ C. W. SEASTONE, J. Exp. Med. 70, 361 (1939). – G. BLIK und O. SNELLMANN, Ark. Kemi Mineral. Geol. 19A, Nr. 221 (1945).

⁶ D. McCLEAN, Biochem. J. 37, 169 (1943). – Z. HADIDIAN und N. V. PIRIE, Biochem. J. 42, 260 (1948).

⁷ J. MADINAVEITIA und M. STACEY, Biochem. J. 38, 413 (1944).

⁸ J. MADINAVEITIA, Biochem. J. 22, 347 (1939). – J. HUMPHREY, Biochem. J. 37, 177 (1943).

⁹ D. McCLEAN und C. V. HALE, Biochem. J. 35, 159 (1941). – E. HAAS, J. biol. Chem. 163, 63 (1946). – G. I. M. SWYER und C. W. EMMENS, Biochem. J. 41, 29 (1947).

¹⁰ D. McCLEAN, Biochem. J. 37, 169 (1943).

¹¹ K. MEYER, G. L. HOBBS, E. CHAFFEE und M. H. DAWSON, J. Exp. Med. 71, 137 (1940). – J. H. HUMPHREY, Biochem. J. 40, 442 (1946).

¹² E. H. KASS und C. V. SEASTONE, J. Exp. Med. 79, 319 (1944). – A. DORFMAN und N. L. OTT, J. biol. Chem. 172, 367 (1948).

¹³ S. L. LEONARD, P. L. PERLMAN und R. KURZROK, Endocrinol. 39, 261 (1946).

¹ G. I. M. SWYER, Biochem. J. 41, 409 (1947).

² Vgl. Note von I. Kolonne

³ G. I. M. SWYER, Biochem. J. 41, 413 (1947).

⁴ C. A. JOEL und E. EICHENBERGER, Schweiz. med. Wschr. 2601 (1945).

⁵ G. I. M. SWYER, Nature (London) 160, 433 (1947).

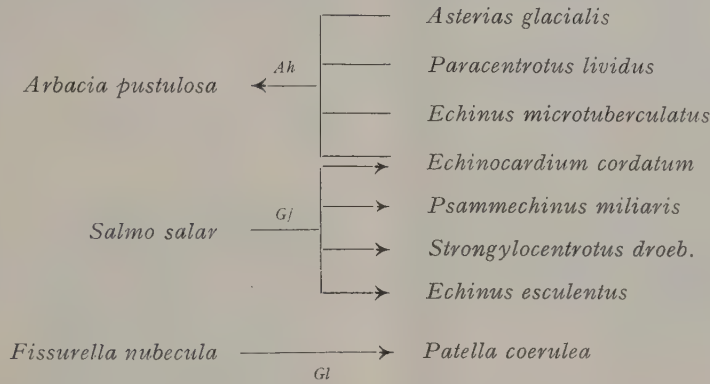
⁶ J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944). – J. RUNNSTRÖM, A. TISELIUS und E. VASSEUR, Ark. Kemi Mineral. Geol. 15A, n:r 16 (1942).

⁷ M. HARTMANN, F. Graf MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

⁸ H.-J. BIELIG und F. Graf MEDEM, unveröffentlicht.

des Forellenagglutinins bei 35000 liegt (vgl. S. 30), daß 1 Mol Thymonukleinsäure vom Molekulargewicht etwa 1 Million auf 1 Mol Agglutinin genügt, um die Agglutination der arteigenen Spermien gerade noch total zu hemmen. Dagegen sind 2000 Mole Hefenukleinsäure vom Molekulargewicht etwa 20000 für denselben Effekt nötig. Es ist nach diesen Befunden anzunehmen, daß bei der beobachteten G_{II} -inaktivierenden Wirkung

spiel das Sperma von *Haliotis tuberculata* die Gallert-hüllen der Eier von *Patella coerulea* nicht, obwohl es diese befruchtete¹. Entsprechendes gilt wechselseitig für *Megathura crenulata* und *Haliotis cracherodii*². Die bisher gefundenen *Spezifitätsbeziehungen* des A_{II} -Komplexes zeigt folgende Übersicht (Wirkung in Pfeilrichtung; *Ah* Aufhebung der G_{II} -Wirkung, *Gf* Fällung des Gallerthüllenproteins, *Gl* Auflösung der Gallerthülle³):



des A_{II} -Komplexes (vgl. Abb. 2) aus den Spermien stammende Desoxyribonukleinsäure im Spiele sein wird und daß zwischen dieser Wirkung und dem fällenden Effekt auf die agglutininhaltige Eihülle kein grundlegender Unterschied besteht.

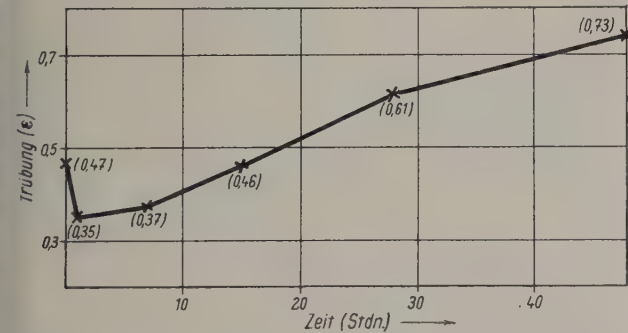


Abb. 2. Fällende Wirkung von fällendem A_{II} -Faktor auf die Gallert-hüllen der Eier der Regenbogenforelle (nach HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG¹).

In 10 cm³ Rohandrogon-II-Lösung in 1%igem NaCl (entsprechend 1 g methanolextrahiertem, getrocknetem Sperma) sind 30 mg im Achatmörser pulverisierte, gewaschene und getrocknete Gallert-hüllen suspendiert (Überschichtung mit Toluol). Trübungsmessung mit dem lichtelektrischen Kolorimeter. Extinktion der Roh- A_{II} -Lösung allein = 0,22. Die anfängliche Abnahme der Trübung ist auf die Quellung der trockenen Gallerthüllen zurückzuführen. Die dann einsetzende Trübungszunahme beruht auf der Wirkung A_{II} .

Nach den Untersuchungen von HARTMANN und Mitarbeitern² ist die antagonistische Wirkung des A_{II} -Komplexes zum G_{II} ebensowenig art-, gattungs- und ordnungsspezifisch wie die spermienlähmende Wirkung des A_I . Nicht so ausschließlich trifft dies für die lösende Wirkung auf die Eihüllen zu. So beeinflusst zum Bei-

Auch die Hyaluronidase der Säugetierspermien wirkt nicht immer spezifisch. Es werden zum Beispiel die Follikelzellen der Ratte vom Ei abgelöst durch Fermentpräparate aus Stierhoden, Schafestikeln und Kaninchensperma⁴. Andererseits vermag die Mucinase aus Stierhoden die Eigallerten von *Arbacia pustulosa* und *Sphaerechinus granularis* nicht zu lösen^{5,6}.

Zum Abschluß der Besprechung der einzelnen Gamone sei hier nochmals eine Gegenüberstellung ihrer chemischen Charakterisierung und biologischen Wirkung bei den beiden bisher am vollständigsten untersuchten Tieren gebracht, einem Wirbellosen (*Arbacia pustulosa* syn. *Arbacia lixula*) und einem Wirbeltier (*Salmo irideus*).

Weitere in Zusammenhang mit der Befruchtung gebrachte Stoffe

Es ist bereits darauf hingewiesen worden, daß beim Studium der Befruchtungsvorgänge über die Leistungen der bisher beschriebenen Gamone hinaus noch Wirkungen entdeckt worden sind, die auf die Anwesenheit weiterer Befruchtungsstoffe hindeuten.

Im Zuge seiner ausgedehnten Untersuchungen gab bereits LILLIE⁷ an, daß in den Eiern von *Arbacia punc-*

¹ M. HARTMANN, F. Graf MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIEL, Z. Naturforsch. 2b, 350 (1947).

² M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 389 (1940).

¹ F. Graf MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

² A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 317 (1939); 26, 249 (1940); Biol. Bull. 73, 159 (1940).

³ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940). – Graf F. MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945). – J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944).

⁴ D. McCLEAN und J. W. ROWLANDS, Nature (London) 150, 627 (1942). – E. FEKETE und F. DURAN-REYNALS, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 52, 119 (1943).

⁵ J. RUNNSTRÖM, L. MONNÉ und L. BROMANN, Ark. Zool. 35A, n:r 3 (1943).

⁶ A. MONROY und A. RUFFO, Nature (London) 159, 603 (1947).

⁷ F. R. LILLIE, J. Exp. Zool. 16, 523 (1914).

Tabelle XI
Vergleich der Befruchtungsstoffe von *Arbacia pustulosa*^{1,2} und *Salmo irideus*³

Gamone	<i>Arbacia pustulosa</i> ^{1,2}		<i>Salmo irideus</i> ³	
	Chemische Charakterisierung	Biologische Wirkung	Chemische Charakterisierung	Biologische Wirkung
Gynogamon-I-Komplex	<i>Echinochrom A</i> (symplexgebunden), <i>Naphthochinonfarbstoff</i> C ₁₂ H ₁₀ O ₇ , Smp. 220°. Chinon von 1,3,4,5,6,7,8-Hepta-oxy-2-äthyl-naphthalin	1. Aktivierung der Spermien bis 1:2,5 · 10 ⁹ (krist. Farbstoff); bis 1:3 · 10 ¹¹ (ternärer Symplex) 2. Chemotaxis der Spermien im Kapillarversuch 3. Antagonist zu A _I	<i>Astaxanthin</i> (im Eiöl gelöst), <i>Carotinoid</i> C ₄₀ H ₅₂ O ₄ , Smp. 216° 5,5'-Dioxy-4,4'-diketo-β-carotin	1. Aktivierung der Spermien bis ~ 1:1 · 10 ⁵ (krist. kolloider Farbstoff) 2. Chemotaxis der Spermien im Kapillarversuch (60 γ je cm ³) 3. Antagonist zu A _I
Gynogamon II	<i>Agglutinin</i> (Hilfsträger) aus Gallerthülle, fehlt im Eiinhalt, löslich im Wasser, fällbar mit NH ₄ -Sulfat und n/100 HCl, nicht dialysabel, thermolabil	1. Agglutiniert die Spermien bis 1:5 · 10 ⁶ 2. Antagonist des lösenden A _{II} -Faktors	<i>Agglutinin</i> aus Eiinhalt. Unlöslich in Wasser, löslich in verdünnten Salzlösungen, Säuren und Laugen; fällbar mit NH ₄ -Sulfat und mit Nukleinsäure, Globulinatur. Sehr thermolabil	1. Agglutiniert die Spermien bis 1:5 · 10 ⁹ 2. Antagonist des fällenden A _{II} -Faktors
Androgamon I	Rückstand des Methanolauszuges ausgetrocknetem Sperma (Roh-A _I), thermostabil	1. Spermienlähmend bis 1:8 · 10 ³ 2. Aufhebung der G _I -Wirkung: 5 · 10 ⁻⁷ g <i>Echinochrom A</i> durch 1 cm ³ Spermaliquor	Rückstand des Methanolauszuges ausgetrocknetem Sperma (Roh-A _I), thermostabil	1. Spermienlähmend bis 1:1 · 10 ³ 2. Aufhebung der G _I -Wirkung von 2,4 · 10 ⁻⁴ g <i>Astaxanthin</i> durch 1 g Roh-A _I
Androgamon-II-Komplex	a) Thermostabiler Faktor ⁴ : Unlöslich in Methanol, löslich in 1%igem NaCl, fällbar mit Phosphorwolframsäure, thermostabil 5 Stunden bei 98°. b) Thermolabiler Faktor ⁵ : Hyaluronidase.	a) Gereinigtes Präparat gallerthüllelösend bis 1:9 · 10 ² Rohpräparat hebt G _{II} -Wirkung auf. b) Eihüllelösend mit 1:1,5 · 10 ³ in 10–15 Min. Kein Antagonist des G _{II}	Roh-A _{II} -Komplex. Unlöslich in Methanol, thermostabil in siedendem Methanol	1. Keine lösende, aber fällende Wirkung auf die Gallerthüllen 2. Aufhebung der G _{II} -Wirkung von 1 · 10 ⁻⁶ g: Rohagglutinin durch 1 g rohen A _{II} -Komplex

tulata neben dem Fertilizin ein diesem antagonistisch wirkendes *Antifertilizin* vorkommt. TYLER⁶ fand eine entsprechende Wirkung in Extrakten aus tiefgefrorenen, hüllefreien Eiern von *Strongylocentrotus purpuratus*. Durch solche Eiauszüge wird die G_{II}-Wirkung von Eisekretwasser aufgehoben, wobei es sogar zu Fällungen kommen kann. Daß hier eine echte Präzipitinreaktion vorliegt, ergibt sich auch daraus, daß das Antifertilizin bei intakten Eiern eine Agglutination unter Ausbildung einer befruchtungshindernden Präzipitin-

membran hervorruft, was RUNNSTRÖM¹ schon früher bei *Arbacia punctulata* festgestellt hatte. Diese Eiagglutination wird durch einen Überschuß an Eisekretwasser verhindert. Nach ihrer Übereinstimmung in Thermolabilität, Verhalten bei der Dialyse, Fällungsreaktionen und Inaktivierung durch proteolytische Enzyme hält TYLER² das Antifertilizin der Eier und das G_{II}-hemmende Prinzip des Androgamon-II-Komplexes der Spermien bei *Arbacia* für identisch. In neuerer Zeit fand dieser Autor³ weiter, daß mit gereinigtem Antifertilizin aus den Eiern des Seeigels *Lytechinus pictus* und des Gephyreen *Urechis caupo* immunisierte Kaninchen multivalente Antikörper bilden. Letztere gehen bei Photooxydation in eine nicht mehr präzipitierende,

¹ M. HARTMANN und O. SCHARTAU, Biol. Zbl. 59, 571 (1939).
² M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).
³ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Z. Naturforsch. 2b, 330 (1948).
⁴ K. WALLENFELS, Österr. Chem.-Ztg. Nr. 19/20 (1940).
⁵ A. MONROY und A. RUFFO, Nature (London) 159 603 (1947).
⁶ A. TYLER, Proc. Nat. Acad. Sci. (U.S.A.) 25, 317 (1939); 26, 249 (1940); Biol. Bull. 73, 159 (1940).

¹ J. RUNNSTRÖM, Biol. Bull. 69, 345 (1935).
² A. TYLER und K. O'MELVENY, Biol. Bull. 81, 364 (1941).
³ A. TYLER, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 62, 197 (1946).

univalente Form über, die die Befruchtungsfähigkeit der Spermien sehr stark herabsetzt, ohne deren Aktivität zu beeinflussen. Bei der Regenbogenforelle beobachteten schließlich HARTMANN, MEDEM, KUHN und BIELIG¹, daß die agglutinierende Wirkung des Eiinhaltes sehr viel schwächer ist als die einer entsprechenden Menge gereinigten Agglutinins, was ebenfalls auf die Anwesenheit eines G_{II} -Hemmstoffes im Ei hinweist. Da die G_{II} -hemmende Wirkung des Spermas von *S. irideus* wahrscheinlich auf seinem Gehalt an Nukleinsäure beruht (vgl. S. 26 Kol. 2 unt.), wird das Antifertilizin in der Nukleoproteidfraktion des Eies zu suchen sein.

Der Methanolauszug aus dem Sperma von *Echinus esculentus* und anderen Seeigeln enthält, vergesellschaftet mit dem A_I , einen Faktor, der die Oberfläche der Eier spezifisch beeinflusst, und den RUNNSTRÖM und Mitarbeiter² A_{III} nennen. Unbefruchtete, hüllenfreie Seeigeleier, die in hypertonischem Seewasser mit runzlicher Oberfläche reversibel schrumpfen, tun dies in Gegenwart von A_{III} mit glatter Oberfläche. Die Wirkung dieses «Androgamons» wird auf eine Verflüssigung der Kortikalschicht (Perivitellinmembran) der Eier zurückgeführt³. Der A_{III} -Wirkstoff ist dialysabel, schwach thermolabil und empfindlich gegen die Einwirkung proteolytischer Enzyme. Er wird von Al-Oxyd und Al-Hydroxyd nicht adsorbiert, was seine chromatographische Trennung vom A_I ermöglicht. Die A_I - und A_{III} -haltigen Lösungen sollen ferner die fällende Wirkung des A_{II} -Komplexes hemmen.

Eine antagonistische Wirkung zum A_I wurde von MEDEM⁴ in den Spermatophoren der Auster festgestellt.

WOODARD⁵ gibt an, daß die nicht befruchtenden, apyrenen Spermien der Süßwasserschnecke *Goniobasis laqueata* das Beweglichwerden der eupyrenen Spermien bewirken. Sie rufen weiter Spermaagglutination hervor. Eine schwache Agglutination der arteigenen Spermien wurde auch in verdünnten, A_I -haltigen Methanolauszügen aus dem Sperma der Regenbogenforelle beobachtet⁶.

Prostatasekret von *Bombyx mori* erhöht die Beweglichkeit der arteigenen Spermien so, daß diese die Bursa copulatrix verlassen können⁷.

CORNMAN⁸ findet merkwürdigerweise eine spermienaktivierende Wirkung im Wasserdampfdestillat des «Echinochromsymplexes» der Eier von *Arbacia punctulata*.

Nach LILLIE und JUST⁹ geben geschlechtsreife *Nereis*-

weibchen einen Faktor an Seewasser ab, der die Männchen zur Spermaabgabe veranlaßt. DEFRETIN¹ erzielte denselben Effekt mit Extrakten aus ganzen Tieren.

Die Ovarialflüssigkeit reifer und unreifer Eierstöcke der Wollhandkrabbe löst die reifen Spermatophoren auf, wobei die Spermien im ersten Falle beweglich werden, im zweiten nicht².

Über die Faktoren, die die Ausbildung der Befruchtungsmembran bei Seeigeleiern bedingen, ist unseres Wissens noch nichts Sicheres bekannt. Die normale Entstehung dieser Membran ist nach CHAMBERS³ von osmotischen Phänomenen unabhängig. Da sich die Farbe der Eioberfläche nach dem Eindringen des Spermakopfes ändert, und da die fertige Befruchtungsmembran im Gegensatz zur entstehenden von Kaliumchlorid und Harnstoff nicht mehr gelöst wird, nimmt man an, daß ihre Ausbildung mit Änderungen in der Lipidstruktur der Kortikalschicht einhergeht und auf der Umwandlung von Sphäro- in Linearproteide beruht⁴.

Schließlich sei darauf hingewiesen, daß KUHLE⁵ mittels des Zeitrafferfilmes erstmals zeigen konnte, daß bei *Psammechinus miliaris* sich der weibliche Vorkern zur Verschmelzung auf den in das Ei eingedrungenen männlichen Vorkern zubewegt. Sicher sind auch hier noch unbekannte physiko-chemische Wirkungen im Spiel.

Bedeutung der Gamone für den Befruchtungsvorgang

Die Erkenntnisse, die vor allem im letzten Jahrzehnt gesammelt und in dem vorliegenden Bericht zusammengestellt sind, lassen neue Einblicke in das Wesen des Befruchtungsvorganges zu. Wenn sie auch bisher nicht zur Aufstellung einer allgemeinen «Theorie» der Befruchtung geführt haben, so zeigen sie doch den Weg, in welcher Weise die Anschauungen der älteren Forscher, vor allem LILLIES Fertilizintheorie, abzuändern und dem heutigen Stande der Forschung nach zu ergänzen sind. Hinweise in dieser Richtung verdanken wir vor allem HARTMANN⁶ und TYLER⁷.

Der Gynogamon-I-Komplex lockt die Spermien chemotaktisch an und erhöht deren Beweglichkeit in Einnähe durch Aufhebung ihrer A_I -Wirkung. Die Lähmung der Spermienbewegung durch das *Androgamon I* kann als Schutz gegen vorzeitigen Energieverbrauch der Spermien aufgefaßt werden, wodurch diese länger befruchtungsfähig bleiben. Aus Versuchen am Seeigel *Arbacia* folgt nämlich, daß Eier, die in Gegenwart von zusätzlichem A_I arteigen oder kreuzbefruchtet werden, wesentlich in der Entwicklung gegenüber normal be-

¹ M. HARTMANN, Graf F. MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947).

² J. RUNNSTRÖM, S. LINDVALL und A. TISELIUS, Nature (London) 153, 285 (1944).

³ J. RUNNSTRÖM, L. MONNÉ und L. BROMAN, Ark. Zool. (Stockholm) 35A, Nr. 4 (1943).

⁴ F. Graf MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).

⁵ T. M. WOODARD jr., J. Exp. Zool. 85, 103 (1940).

⁶ F. Graf MEDEM und H.-J. BIELIG, unveröffentlicht.

⁷ S. OMURA, Jap. J. Genetics 16, 63 (1940).

⁸ J. CORNMANN, Biol. Bull. 80, 202 (1941).

⁹ F. R. LILLIE und E. E. JUST, Biol. Bull. 24, Nr. 3 (1913).

¹ R. DEFRETIN, Bull. Soc. Zool. France 66, 149 (1941).

² F. Graf MEDEM, unveröffentlicht.

³ R. CHAMBERS, J. Cell. Comp. Physiol. 19, 145 (1942).

⁴ J. RUNNSTRÖM, Scientia (Mailand) 71, 149 (1942). — J. RUNNSTRÖM, L. MONNÉ und E. WICKLUND, J. Coll. Sci. 1, 421 (1946).

⁵ W. KUHLE, Die Entwicklung des Seeigeleies. Hochschulfilm C 382 der Reichsanstalt für Film und Bild (1941).

⁶ M. HARTMANN, Naturwiss. 28, 807 (1940).

⁷ A. TYLER, Biol. Bull. 81, 190 (1941).

fruchteten Eiern zurückbleiben. Durch gleichzeitig zugegebenes Echinochrom A wird diese befruchtungshemmende Wirkung aufgehoben¹.

Unterschiedlich beurteilt wurde bisher die Rolle des *Gynogamons II*. Während LILLIE dem Agglutinin (Fertilizin) die entscheidende Bedeutung für die Befruchtung zuschrieb, wurde dieser Substanz von LOEB² und anderen Forschern³ ein allgemeingültiger Einfluß auf das Befruchtungsgeschehen abgesprochen, da man bei vielen Arten keine von den Eiern ausgehende Agglutinationswirkung feststellen konnte. Dank der Entdeckung der antagonistischen Wirkung des G_{II} zu einem Faktor des A_{II} -Komplexes hat sich das Gynogamon II auch in allen bisher untersuchten Fällen nachweisen lassen, wo seine agglutinierende Wirkung vermißt wurde. Sieht man von der experimentellen, unphysiologisch starken Agglutination ab, so kann man in Anlehnung an LILLIE das Gynogamon II als einen Faktor ansehen, der sowohl die Ei- wie die Spermienoberfläche beeinflußt. Um die Eioberfläche bildet sich anscheinend ein G_{II} -Antifertilizinkomplex aus, der durch Reaktion mit dem antagonistischen A_{II} -Faktor der Spermien diese in Einähe hält (reversible Agglutination). Die Masse der so fixierten Spermien macht schließlich die Hauptmenge des Agglutinins in gleicher Weise weiter unwirksam und bewirkt durch das lösende A_{II} -Prinzip die Auflockerung der Eihülle, so daß schließlich einem Spermium der Eintritt in das Ei gelingt. Wie sehr es auf das richtige Verhältnis von G_{II} und A_{II} -Komplex ankommt, geht u. a. aus einem Versuch von HARTMANN und Mitarbeitern¹ hervor. Während normal in Seewasser befruchtete *Arbacia*-Eier eine Befruchtungsrate von 100% ergaben, sank diese nach einstündigem Aufenthalt in einer Lösung des thermostabilen, eihüllelösenden A_{II} -Faktors (0,3 mg je 1 cm³ Seewasser) auf 50% und bei zweistündigem Aufenthalt auf 0%. Bei *Arbacia* spielt das G_{II} noch insofern eine besondere Rolle, als es als Hilfsträger im ternären Symplex erst dessen G_I -Wirkung ermöglicht. Eine irreversible Heteroagglutination wird schließlich als Schutz gegen Kreuzbefruchtung aufgefaßt. Zum Beispiel werden *Arbacia*-Eier in *Paracentrotus*-Eisekretwasser durch *Paracentrotus*-Sperma zu weniger als 1% befruchtet. Wäscht man in dessen das G_{II} aus den *Arbacia*-Eiern aus, so steigt nach

Zusatz von Eisekretwasser von *Paracentrotus* (G_I -Komplex und G_{II}) die Befruchtungsziffer auf 20%^{1, 2}.

Es ist nach dem Gesagten verständlich, daß nur morphologisch und physiologisch reife Gameten voll wirksame Gamone abgeben. Eine abgeschwächte oder ausbleibende Gamonwirkung bei unreifen oder überreifen Eiern und Spermien ist daher immer wieder Gegenstand der Beobachtung gewesen^{1, 3}. «Bei den Gamonen ... handelt es sich (eben) um ein fein abgestimmtes System, und der Erfolg der Befruchtungen, der sich in hohen Entwicklungsziffern kundgibt, hängt von den günstigen Konzentrationsverhältnissen und vom mengenmäßigen Zusammenspiel der männlichen und weiblichen Gamone ab» (HARTMANN⁴).

Summary

The authors review the development and present state of biological and chemical research on the fertilizing substances (gamons) of the metazoa. The general principles of nomenclature proposed by M. HARTMANN and R. KUHN (1939) are taken as a basis. Other customary ways of naming single gamons are given a place within it.

In particular are treated:

- (1) The gynogamon I complex. Activating and chemotactically attracting factors of the eggs (echinochrom in the case of *Arbacia pustulosa*, astaxanthin in the case of *Salmo irideus*); antagonism to androgamon I.
- (2) Gynogamon II. Iso- and heteroagglutinins of the eggs.
- (3) Androgamon I as a factor of the sperm that inhibits the movements of the spermatozoa.
- (4) The androgamon-II complex. Factors that dissolve the ovulatory membranes (thermostable factor in the case of *Arbacia pustulosa*, Hyaluronidase in the case of *A. pustulosa* and of mammals). Factors that precipitate the ovulatory membranes and factors antagonistic to gynogamon II in the case of *Salmo irideus*, some sea-urchin eggs, and *Megathura crenulata*.
- (5) Additional substances brought into connection with fertilization (antifertilizin of the eggs, androgamon III, factors in the sperm that agglutinate spermatozoa, and others).

Under the separate gamons tables are to be found on their occurrence and biological specificity. The review is concluded with some considerations on the significance of the gamons in the process of fertilization.

¹ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

² H.-J. ELSTER, Arch. Entwicklungsmechanik 133, 1 (1935).

³ F. Graf MEDEM, Biol. Zbl. 62, 431 (1942); Zool. Jb. 61, 1 (1945).
- M. HARTMANN, F. Graf MEDEM, R. KUHN und H.-J. BIELIG, Z. Naturforsch. 2b, 330 (1947). - E. E. JUST, Protoplasma 10, 308 (1930).

⁴ M. HARTMANN, Naturwiss. 28, 807 (1940).

¹ M. HARTMANN, O. SCHARTAU und K. WALLENFELS, Biol. Zbl. 60, 398 (1940).

² J. LOEB, J. Exp. Zool. 17, 123 (1914); Am. Nat. 49, 278 (1915).

³ A. DALCQ, Les bases physiologiques de la fécondation (Presses Univ., Paris 1928). - H.-J. ELSTER, Verh. Dtsch. zool. Ges. 1936, 168.

Die Schädigung des Zellkerns durch Röntgenbestrahlung

Von HANS MARQUARDT¹, Freiburg i. Br.

A. Allgemeines

Jede tiefer dringende Analyse der Einwirkung von Röntgenstrahlen auf Organismen muß früher oder später die Reaktion der *Zellen* in Betracht ziehen, aus welchen der Organismus zusammengesetzt ist. Bei ihrer außerordentlichen Vielgestaltigkeit kann eine einheitliche Verhaltensweise nicht erwartet werden, und so sind Röntgenversuche mit Einzellern und Vielzellern, mit Pflanzen und Tieren verschiedener Organisationshöhe, mit Zellen in- und außerhalb eines geschlossenen Gewebeverbandes, mit embryonalen und ausdifferenzierten, dem Normaltyp nahestehenden und in besonderem morphologischem und physiologischem Zustand befindlichen Zellen durchgeführt worden.

Je nach der Eigenart des Objekts und dem besonderen Interesse des Untersuchenden sind verschiedene Methoden zur Anwendung gebracht und so die verschiedenen Teilphänomene der Röntgenwirkung erfaßt worden: der Morphologe befaßt sich mit dem mikroskopisch oder submikroskopisch nachweisbaren Strukturwandel, der Physiologe mit den nachweisbaren Änderungen der physiologischen Zustandsgrößen in der Zelle. Diese Feststellungen können bereits während der Bestrahlung oder in steigendem zeitlichen Abstand von ihr getroffen werden.

Aus der Fülle der gegebenen Möglichkeiten soll hier allein die Analyse der Röntgenwirkung auf einen Bestandteil der Zelle, auf den *Zellkern*, herausgegriffen werden, und zwar diejenigen Folgeerscheinungen, welche an noch teilungsfähigen Kernen in den folgenden *Mitosen* mit morphologischen Methoden nachzuweisen sind.

Bei der Bearbeitung der *Röntgenpathologie des Zellkerns* hat sich herausgestellt, daß die zur Untersuchung herangezogenen Objekte bestimmten Anforderungen genügen müssen, wenn die Analyse erfolgreich sein soll: 1. die Zellen sollen in streng vergleichbarem oder genau faßbarem morphologischem und physiologischem Zustand von den Strahlen getroffen werden; 2. es soll die Möglichkeit zur Lebendbeobachtung der Kerne während und nach der Bestrahlung gegeben sein; 3. es soll die *erste* Mitose nach der Bestrahlung sicher und ohne Verwechslung mit den folgenden Teilungsschritten zu fassen sein; 4. der Zellkern soll möglichst wenige und dabei große Chromosomen besitzen; 5. die einzelnen Chromosomen des Kerns sollen in möglichst allen Phasen der Kernteilung voneinander unterschieden werden können.

Diesen Maximalforderungen kommen als pflanzliches Material die Pollenkörner in den Staubgefäßen der

Blüten am nächsten. In ihnen läuft vor dem Verlassen der Antheren nur eine einzige Kernteilung, die *Pollenmitose*, und nach dem Ausstäuben bei der Keimung des Pollenschlauches ebenfalls nur eine einzige Mitose, die *Pollenschlauchmitose*, ab. Man bestrahlt also entweder die heranwachsenden Pollenkörner und analysiert die strukturellen Änderungen in der Pollenmitose oder es werden die reifen Pollenkörner bei der Keimung bestrahlt, um danach die Pollenschlauchmitose zu untersuchen. Der erste Weg ist der methodisch einfachere und darum begangener; MARQUARDT¹ führte als Objekt zu derartig angelegten Röntgenversuchen *Bellevia romana* mit 4 Chromosomen ein, welches die Forderungen 1, 3, 4 und 5 erfüllt, und SAX² *Tradescantia paludosa* mit 6 Chromosomen, für welches außer der Forderung 5 dieselben Forderungen realisiert sind. – Von tierischem Material eignen sich am besten die Neuroblastenkerne einer Heuschrecke, *Chortophaga viridifasciata*, welche CARLSON³ einführte und die vor allem die Forderung 2 und damit auch 1 und 3 erfüllen. Die Forderung 4 ist dagegen nur teilweise, 5 überhaupt nicht gegeben.

Von genetischer Seite wurden ferner an der Taufliege *Drosophila* noch Spezialmethoden zur Anwendung gebracht. Nach Bestrahlung reifer und somit in einheitlichem Zustand befindlicher Keimzellen – zumeist Spermatozoen – wird entweder aus den Abweichungen im genetischen Verhalten der Folgegeneration bzw. Generationen auf strukturelle Änderungen an den Chromosomen der bestrahlten Keimzellen rückgeschlossen. Oder es werden in der F_1 , welche sich aus einem bestrahlten und einem unbestrahlten Genom zusammensetzt, die für eine Chromosomenfeinanalyse so günstigen Speicheldrüsen auf röntgeninduzierte Strukturumbauten hin untersucht. In beiden Fällen ist aber nur die Forderung 1 und 5 erfüllt, und es müssen daher Rückschlüsse aus diesen Untersuchungen besonders sorgfältig auf ihre Tragfähigkeit hin geprüft werden. Nachdem FANO⁴ als Genetiker und MARQUARDT⁵ als Zytologe Grenze und Leistungsfähigkeit der rein zytologischen und der zytogenetischen Methoden kritisch herausgearbeitet haben, ist heute eine fast lückenlose Aneinanderfügung ihrer Ergebnisse prinzipiell möglich.

Bei allen experimentellen Einwirkungen auf den Zellkern hat sich herausgestellt, daß verschiedenartige Reaktionen eintreten, wenn ein Kern während des Ablaufs der Kernteilung oder wenn er in Teilungs-

¹ H. MARQUARDT, Z. Botanik 32, 401 (1938).

² K. SAX, Genetics 23, 494 (1938).

³ I. G. CARLSON, Genetics 23, 596 (1938).

⁴ U. FANO, Cold Spring Harbor Symp. 9, 113 (1941).

⁵ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

ruhe von ihnen getroffen wird. Dies gilt vor allem für Röntgenbestrahlungen, wo die Dauer der Bestrahlung fast stets viel kürzer gewählt wird als die Dauer der Kernteilung. Seit HERTWIG¹ wird daher die Strahlenwirkung auf Kerne in den *Primäreffekt* (Auswirkungen auf sich teilende Kerne) und den *Sekundäreffekt* (Auswirkungen auf Kerne in Teilungsrue) untergeteilt. In günstigen Fällen liegt dazwischen noch eine mitosefreie Zwischenzeit. Die Bezeichnung der beiden Wirkungsweisen hat sich im Laufe der Untersuchungen nicht als ganz glücklich erwiesen; LEA² hat daher vorgeschlagen, die Begriffe Primäreffekt und Sekundäreffekt durch «physiologische Effekte» und «strukturelle Veränderungen» zu ersetzen. Die überraschenden Fortschritte in der Analyse chemikalien-induzierter Chromosomen-Aberrationen haben aber gezeigt, daß dieser Unterscheidung auch außerhalb der Röntgenwirkung eine allgemeine Bedeutung zukommt. Unter dem Aspekt der gesamten Chromosomen- und Kernpathologie wäre, nach einem Vorschlag MARQUARDTS³, der Primäreffekt als «unspezifische physiologische Störung», der Sekundäreffekt als «Ruhekerngift Störung» zu bezeichnen.

B. Der Primäreffekt (unspezifische physiologische Störung)

Werden Zellen während des Ablaufs einer Kernteilung von Röntgenstrahlen getroffen, so tritt als erster Erscheinungskomplex eine *Verlangsamung der Ablaufgeschwindigkeit von Kern- und Zellteilung* ein.

Bei einer Lebensbeobachtung der Neuroblasten von *Chortophaga viridifasciata* findet CARLSON⁴, daß in der späten Prophase 10–15 Minuten vor Auflösung der Kernmembran eine «kritische Periode» besteht: eine schwache Bestrahlung (8–16 r) kurz davor hemmt bereits die Auflösung der Kernmembran für einige Stunden und bewirkt so einen zeitlich begrenzten Teilungsstillstand. Bestrahlung in früher Prophase verlangsamt den Prophaseablauf gleichfalls, während nach der kritischen Periode keine Verzögerung mehr gesetzt wird. Bei einer stärkeren Dosis (250 r) ergibt sich prinzipiell dasselbe, es kehren aber dabei die nahe der kritischen Periode getroffenen späten Prophasen bis zur frühen Prophase zurück, um nach mehreren Stunden der Verharrung zum zweitenmal die mittlere und späte Prophase zu durchlaufen.

In einem rasch sich teilenden Gewebe, wie etwa in einer pflanzlichen Wurzelspitze, in welcher zur Zeit der Bestrahlung die Zellen in verschiedenen Zuständen hinsichtlich Kernteilung bzw. Teilungsrue vorhanden sind, spiegeln sich die an Einzelzellen beschriebenen Effekte in dreierlei Weise:

1. Es tritt ein sehr starkes Absinken der Mitosehäufigkeit ein. Da ein Zellkern hier etwa 3 Stunden

zum Ablauf einer Kernteilung benötigt, ist bei stärkerer Dosis nach dieser Zeit bereits kaum mehr eine Mitose zu finden.

2. Unter den in Teilung befindlichen Zellen verschiebt sich in diesen Stunden das gegenseitige zahlenmäßige Verhältnis der verschiedenen Mitosestadien. Dabei steht die Zunahme der Prophasen und die Abnahme der Metaphasen als auffälligste Erscheinung im Vordergrund (Abb. 1). Die beiden Verschiebungen e

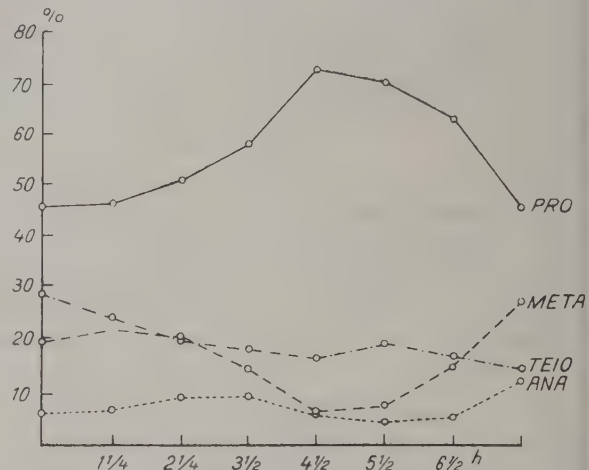


Abb. 1. Prozentuale Häufigkeit der Mitosestadien in den Wurzelspitzen von *Scilla campanulata* in steigendem Abstand von der Bestrahlung. Abszisse: Stunden nach der Bestrahlung. Ordinate: prozentualer Anteil der Mitosestadien unter den in Teilung befindlichen Kernen. Pro Prophase, Meta Metaphase, Ana Anaphase, Telo Telophase. (Nach MARQUARDT¹)

folgen nicht kontinuierlich, sondern diskontinuierlich, so daß von MARQUARDT¹ innerhalb des Zeitraumes des Primäreffektes eine Entfaltungs- und eine Hauptphase unterschieden wurde.

3. Parallel mit der Sistierung von Kernteilungen geht eine Zunahme des Kernvolumens.

Der zweite Erscheinungskomplex im Primäreffekt besteht in einer Änderung der *Oberflächenbeschaffenheit der Chromosomen und Chromatiden* bzw. ihrer Matrix. Von der späten Prophase ab und nach der Kerneöffnung wird in steigendem Maße eine Tendenz der Kernelemente zu Verklebungen und Verklumpungen deutlich, durch welche einzelne oder zahlreiche beliebige Stellen auf der Chromosomenoberfläche in wechselnder Ausdehnung zusammenhängen. Die Chromosomenenden und die Insertionsstellen zeigen eine besondere Bereitschaft dazu (Abb. 2b). Im Extremfall entsteht so ein den ganzen Chromosomensatz oder nur einen Teil umfassender, unanalysierbarer Chromatinklumpen.

In der Anaphase tritt diese Erscheinung an den auseinanderweichenden Chromatiden mit derselben Variabilität der Zahl und des Umfangs der Verklebungen ein. Die Chromatiden werden dabei durch Brücken zusammengehalten, die wie eine zähflüssige Masse sich

¹ O. HERTWIG, Strahlentherapie 11 (1920).

² D. E. LEA, Actions of radiations on living cells (Cambridge, 1946).

³ H. MARQUARDT, Ärztliche Forschung 2 (1948).

⁴ I. G. CARLSON, Cold Spring Harbor Symp. 9, 104 (1941).

¹ H. MARQUARDT, Z. Botanik 32, 401 (1938).

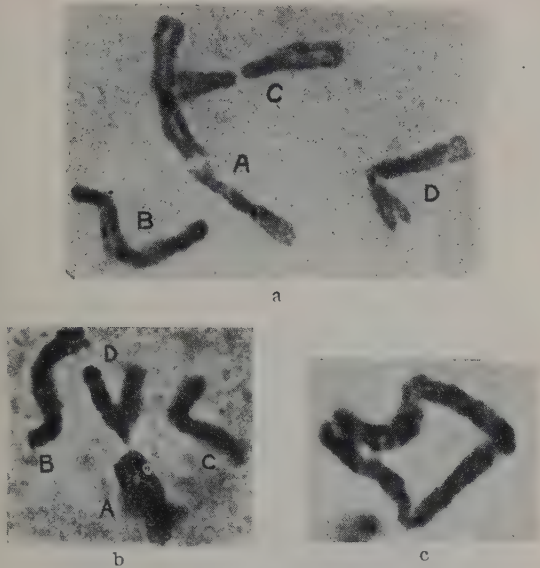


Abb. 2 a–c. *Bellevalia romana*, Metaphasen der Pollenmitose.
a) normaler Chromosomensatz, 4 Chromosomen. Nach MARQUARDT¹.
b) Verklebung der Zentromeren von Chromosom A und D (4 h nach 300-r-Dosis).
c) Frühe Anaphase, nur Chromosom A, mit Brücke zwischen den Chromatiden (1 h nach 300-r-Dosis) A, B, C, D-Bezeichnung der 4 Chromosomen. Vergr. etwa 2500mal. (Nach MARQUARDT²).

auseinanderziehen (Abb. 2c). Löst die Anaphasebewegung diese Verklebungen nicht, so bleiben die beiden Tochterkerne durch Brücken verbunden. Sie erscheinen fadenförmig, wenn nur wenige Chromatiden zusammenhafteten (Abb. 3). Bei umfangreicheren Störungen kommen die bekannten hantelförmigen untereinander verbundenen Tochterkerne zustande, die gelegentlich als «Amitosen» mißdeutet oder als Pseudoamitosen bezeichnet werden.

Eine dritte Gruppe von Kernstörungen umfaßt die *Anomalien des Spindelmechanismus*. Vor allem bei höherer Dosis kommt es entweder zu einem völligen Zusammenbruch der Spindel, indem überhaupt keine geregelte Einordnung der Chromosomen in die Äquatorialplatte und ein Ausbleiben der geordneten Pol-

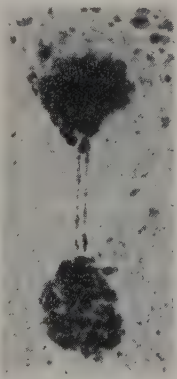


Abb. 3. *Lilium candidum*, Telophase I der Meiosis mit Brücke (3 h nach 300-r-Dosis. Vergr. etwa 1500mal. (Nach MARQUARDT.)

wanderung der Tochterchromosomen stattfindet. Ferner neigen vorwiegend tierische Kerne zu multipolarer Spindelbildung mit einer entsprechenden abnormen Anaphasebewegung der Chromatiden. Aber auch in Kernen mit scheinbar normaler Spindel und normalen Chromosomenbewegungen ist ein auf einzelne Chromosomen beschränktes abnormes Bewegungsverhalten möglich.

Der vierte Erscheinungskomplex trägt nicht mehr den Charakter reiner physiologischer Schädigungen, sondern struktureller Eingriffe am Chromosom. Er besteht in einer *Fragmentation von Chromosomen oder Chromatiden*. Sie kommen einmal als Folgeerscheinungen vorhergegangener Verklebungen zustande und finden sich dann in den Phasen nach stärkeren Chromosomenbewegungen, vor allem in der Anaphase. Andererseits erfolgen sie als selbständige Effekte und können bereits in erstaunlich kurzer Zeit nach der Bestrahlung einer Meiosis (3 Minuten) sichtbar werden (BISHOP¹). Meist führen die Kerne nur einzelne derartige Chromosomenbrüche, doch können sie in selte-

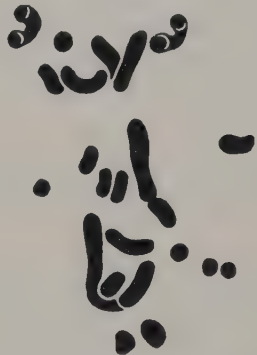


Abb. 4. *Bellevalia romana*, Anaphase der Pollenmitose, totaler Zusammenbruch des Chromosomensystems durch Fragmentation (9 h nach 700-r-Dosis). Vergr. etwa 2500mal. (Nach MARQUARDT²)

nen Fällen so zahlreich sein, daß ein völliger Zusammenbruch des chromosomalen Systems zustande kommt (Abb. 4), der auch spontan beobachtet wurde (DARLINGTON und UPCOTT³).

Die *Auswirkungen* dieser verschiedenartigen Anomalien für das weitere Schicksal der sie enthaltenden Zellen bzw. Zellkerne sind unterschiedlich. Im einfachsten Fall überwindet die Zelle die Hemmungen und die nicht zu ausgedehnt eingetretenen Verklebungen, so daß in den Folgemitosen der Chromosomensatz unverändert erscheint. Im Extremfall degeneriert der Zellkern und mit ihm die Zelle an den erlittenen Röntgenschädigungen. Dazwischen sind alle Übergangsstufen möglich: es entstehen entweder nur mit Stückverlust versehene Tochterkerne, deren Lebensfähigkeit je nach Umfang und Lage der Defizienz entweder nur herabgesetzt oder gänzlich aufgehoben

¹ H. MARQUARDT, Ber. Dtsch. bot. Ges. 60, 98 (1942).

² H. MARQUARDT, Z. Botanik 32, 401 (1938).

³ C. D. DARLINGTON und M. B. UPCOTT, J. Genet. 41, 297 (1941).

³ Exper.

ist. Oder es kommt zur *Heteroploidie*, indem der eine Tochterkern mehr als die Normalzahl an Chromosomen führt, und zur *Polyplodie*, indem durch Zusammenbruch des Spindelmechanismus oder des Vorgangs der Chromosomenteilung ganze Chromosomensätze überzählig vorhanden sind. Beide Phänomene sind bisher vorwiegend an Spermatogonienmitosen von Heuschrecken beobachtet worden (WHITE¹, HELWIG², CAROTHERS³).

Über den *Mechanismus der Auslösung* der beschriebenen röntgeninduzierten Störungen am teilenden Zellkern ist nichts Gesichertes bekannt. Man hat versucht, die Mitosenverlangsamung mit einem Auftreten und Wiederverschwinden von mitosehemmenden Stoffen in Zusammenhang zu bringen (LEA⁴) und die Verklebungen als Folge einer Nukleinsäureanlagerung in flüssigem, nicht polymerisiertem Zustand bei der Chromosomenentwicklung nach Röntgenbestrahlung zu deuten (DARLINGTON⁵). Doch sind diese Interpretationen wohl kaum höher als Arbeitshypothesen zu werten. Auch das Bemühen MARSHAKS⁶, eine Dosisabhängigkeit von Verklebungen und Fragmentationen in der späten Anaphase aufzustellen, führte nicht weiter, um so mehr, als die gewählten Anomalien gerade in diesem Stadium von sekundären Momenten modifiziert sind.

C. Der Sekundäreffekt (Ruhekerngift-Störung)

1. Qualitative Analyse

Beim Sekundäreffekt erhält der ruhende oder noch kaum Zeichen eines Mitosebeginns tragende Kern die Röntgendosis, und mit morphologischen Methoden ist an ihm kaum eine Reaktion festzustellen. Erst die je nach der Natur des Objektes früher oder später einsetzende erste Mitose nach der Bestrahlung zeigt an den nunmehr sichtbar gewordenen Chromosomen die Folgeerscheinungen, welche in erster Linie aus *strukturellen Veränderungen an den Chromosomen* bestehen. Aus der Fülle ihrer möglichen Erscheinungsformen läßt sich mit großer Sicherheit schließen, daß nur zwei Grundvorgänge struktureller Art an den Chromosomen des Ruhekerne ablaufen: die auch im Primäreffekt mögliche *Fragmentation* – ein Zerbrechen von Chromosomenlängselementen, und die als neues, dem Sekundäreffekt eigenes Phänomen hinzukommende *Restitution* – ein nahtloses Zusammenfügen von Bruchstücken zu einem neuen Chromosomen-Ganzen.

a) Die Fragmentation

Das Bruchgeschehen am Chromosom führt nicht zu einem einzigen, im mikroskopischen Bild der verschied-

¹ M. J. D. WHITE, Proc. Roy. Soc. Ser. B. 119, 61 (1935).

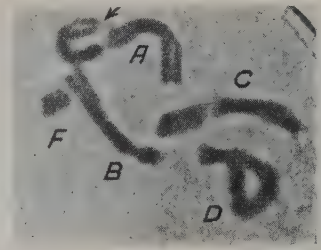
² E. R. HELWIG, J. Morph. 55, 265 (1933).

³ E. E. CAROTHERS, J. Morph. 66, 529 (1940).

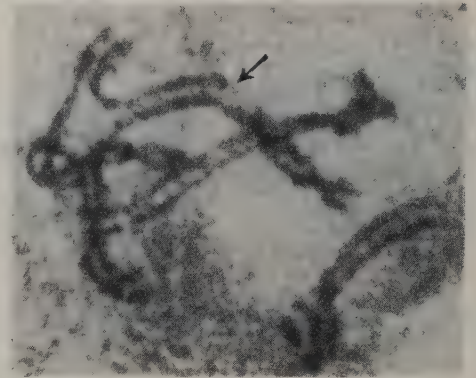
⁴ D. E. LEA, Actions of radiations on living cells (Cambridge, 1946).

⁵ C. D. DARLINGTON, Nature 149, 66 (1942).

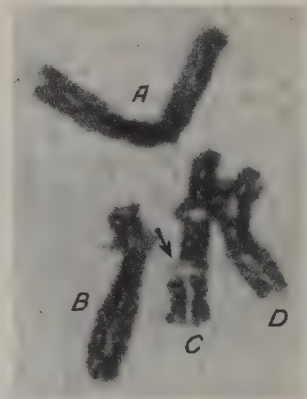
⁶ A. MARSHAK, Radiology 29, 669 (1937).



a



b



c

Abb. 5 a-c (Vgl. dazu Legende Abb. 5 d).

denen Mitosestadien feststellbaren Erdzustand. Es bestehen vielmehr eine Reihe von Möglichkeiten, deren Realisation von zwei Faktorenkomplexen bestimmt ist:

1. Von dem Umfang der Reaktion der Längselemente im Chromosom und
2. von dem Grad der Durchtrennung des Chromosomenkörpers.

Die strukturelle Analyse des Chromosomenfeinbaus hat ergeben, daß bereits vor Eintritt in die Mitose das Chromosom mit hoher Sicherheit mindestens *vierteilig* ist, indem jedes seiner Chromatiden nochmals in zwei Halbchromatiden zerfällt (KUWADA¹, MARQUARDT²). Unabhängig von dem Umfang einer derartigen *morphologischen* Längsspaltung verhält sich unter normalen Bedingungen das Chromosom als ungespaltenes bis zur Anaphase, wo der Längsspalt zwischen den Chromatiden aktuell wird. Gegenüber

¹ Y. KUWADA, Cytologia 10, 213 (1939).

² H. MARQUARDT, Planta 31, 670 (1941).

einer Bestrahlung bestehen daher verschiedene Reaktionsweisen des Chromosoms, welche sich alle in der ersten Mitose nach der Bestrahlung realisiert finden: am häufigsten sind *chromosomale*, den ganzen Chromosomquerschnitt betreffende Brüche (Abb. 5a) und *chromatidale*, nur ein einziges Chromatid umfassende Fragmentationen (Abb. 5b). Schwieriger nachzuweisen sind *Halbchromatidbrüche*, welche nur die Hälfte eines Chromatids umfassen. Sie sind erstmals von NEBEL¹ gesehen und von MARQUARDT^{2,3} in der Pollenmitose von *Bellevalia* photographiert worden (Abb. 5c).

Wenn durch Röntgenstrahlen Längselemente des Chromosoms gebrochen sind und damit eine Bruchstelle gegeben ist, können ihre Bruchflächen in verschiedene räumliche Entfernung voneinander gebracht werden. Ist sie auffällig gering und dadurch im Chromosomenschenkel nur eine Einschnürung oder eine mehr oder weniger breite achromatische Lücke im Chromosom vorhanden, sprechen wir von einer *unvollständigen Fragmentation* (Abb. 5b und c). In der Anaphase können die unvollständigen Fragmentationen entweder ihren Charakter bewahren oder zu vollständigen Brüchen werden.

Stehen dagegen die Bruchflächen in keiner räumlichen Zuordnung mehr zueinander, indem das Bruchstück vom Restkörper des Chromosoms gänzlich getrennt liegt, haben wir eine *vollständige Fragmentation* vor uns (Abb. 5a).

Nicht in allen Fällen stellt die Fragmentation eine einfache Durchtrennung von Chromosomenlängselementen dar. Eine Reihe von unvollständigen Chromatidfragmentationen zeigen in der Prophase, wo eine

Verzerrung des Chromosoms mit einiger Sicherheit ausgeschlossen werden kann, anstelle eines einfachen Bruches eine Herauslösung eines oft ziemlich umfangreichen Chromatidsegments (Abb. 5b), ohne daß im Zellkern das fehlende Stück aufweisbar wäre. Hier handelt es sich wohl um eine weitergreifende, einen kleinen Stückausfall verursachende Einwirkung der Röntgenstrahlen an einer einzigen Bruchstelle, wie sie sich bereits zytogenetisch bei *Drosophila* am *white-notch*-Locus des X-Chromosoms hat nachweisen lassen (DEMEREK, KAUFMANN, SUTTON¹ und DEMEREK, KAUFMANN, SUTTON, FANO²).

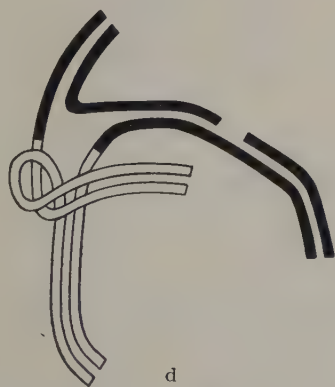
Eine geregelte Chromosomenbewegung ist nur möglich, wenn, wie es unter Normalbedingungen stets der Fall ist, jedes Chromosom eine einzige Insertionsstelle besitzt. Solange daher eine unvollständige Fragmentation vorliegt, deren Bruchstück auch in den Anaphasen sich nicht selbständig macht, ergibt sich ein Normalverhalten im Laufe der auf die Bestrahlung folgenden Mitosen. Auch wenn das Zentromer selbst fragmentiert ist (RHOADES³) und jede Bruchhälfte des Chromosoms einen funktionstüchtigen Teil des Zentromers mitbekommt, brauchen durch dieses Zustandekommen «telozentrischer» Chromosomen noch keine Teilungsstörungen aufzutreten. Erst wenn das Fragment sich von dem Zentromer-führenden Teil des Chromosoms losgelöst hat, ist es keiner geregelten Bewegung fähig und damit zur Elimination verurteilt, die jedoch meist einer oft auffällig langen Zeit bedarf (WHITE⁴, CARLSON⁵, K. SAX⁶).

Nach dem auf die Dauer unvermeidlichen Verlust der Fragmente besitzt der betreffende Kern einen Stückverlust und dazu in dem fragmentierten Chromosom anstelle eines natürlichen Chromosomenendes eine Bruchfläche. Beide Momente ziehen aber in den meisten Fällen zwangsläufig den Tod der betreffenden Zelle nach sich.

Für die qualitative Seite des Fragmentationsproblems hat daher die mit Folgegenerationen nach einer Bestrahlung arbeitende *Drosophilaforschung* nur wenig beizutragen vermocht.

b) Die Restitution

Für eine formale Ableitung der auf diesen Grundvorgang zurückgehenden strukturellen Aberrationen ist die Ausgangsannahme notwendig, daß Brüche vorliegen, über deren aktuellen Zustand zunächst nichts ausgesagt werden kann und die darum als *potentielle Brüche* bezeichnet werden (KAUFMANN⁷,



d

Abb. 5a-d. *Bellevalia romana*, Pollenmitose mit Fragmenten.

- a) Chromosomale, vollständige Fragmentation von Chromosom A (4 Tage nach 300-r-Dosis) Original.
- b) Chromatidale, unvollständige Fragmentation (Pfeil) und reziproke Chromatidtranslokation (3 Tage nach 300-r-Dosis).
- c) Unvollständige Chromatid- und Halbchromatidfragmentation des Chromosoms C (1 Tag nach 300-r-Dosis).
- d) Schema der Translokationsfigur von b, etwas vereinfacht. Pfeile = Fragmentationsorte. Vergr. etwa 2500mal (Nach MARQUARDT²).

¹ B. R. NEBEL, Amer. J. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

² H. MARQUARDT, Z. Bot. 24, 365 (1937).

³ H. MARQUARDT, Planta 31, 670 (1941).

¹ M. DEMEREK, B. P. KAUFMANN und E. SUTTON, Carnegie Inst. of Wash. Year Book 38, 185 (1939).

² M. DEMEREK, B. P. KAUFMANN, E. SUTTON und U. FANO, ib. 40, 225 (1941).

³ M. M. RHOADES, Genetics 25, 483 (1940).

⁴ J. D. WHITE, Proc. Roy. Soc. Ser. B. 119, 61 (1935).

⁵ I. G. CARLSON, Genetics 23, 596 (1938).

⁶ K. SAX, Genetics 26, 418 (1941).

⁷ B. P. KAUFMANN, Cold Spring Harbor Symp. 9, 82 (1941).

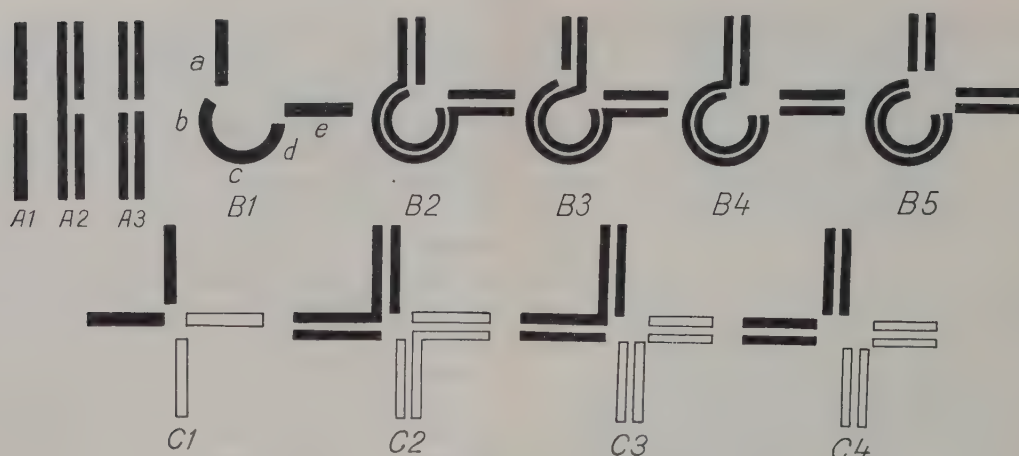


Abb. 6. Schema der verschiedenen Ausgangslagen für Restitutionsvorgänge.

A Für Einbruchrestitutionen. 1 bei ungespaltenem Chromosom, 2 bei gespaltenem, chromatidal verändertem und 3 bei gespaltenem, chromosomal verändertem Chromosom.

B für Zweibruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms. 1 bei ungespaltenem Chromosom, 2 und 3 bei gespaltenem, chromatidal verändertem, 4 bei chromatidal + chromosomal verändertem und 5 bei chromosomal verändertem Chromosom.

C für Zweibruchrestitutionen zwischen 2 Chromosomen. 1 bei ungespaltenen Chromosomen, 2 bei gespaltenen, chromatidal veränderten, 3 bei chromatidal + chromosomal veränderten und 4 bei chromosomal veränderten Chromosomen.

FANO¹). Entscheidend ist nun, daß diese potentiellen Brüche sich nicht oder nur teilweise in der ersten Mitose nach der Bestrahlung als Fragmentationen manifestieren, sondern daß sie in irgendeiner Kombination untereinander zur Restitution kommen, d. h. in einer nahtlosen Wiedervereinigung das alte oder ein verändertes neues Chromosomen-Ganzes bilden. Welcherlei Konfigurationen bzw. Umbauten durch diese Restitutionsvorgänge entstehen, ist abhängig 1. von der Anzahl der am Restitutionsgeschehen beteiligten Brüche, 2. von der Lage der reagierenden Brüche auf den Chromosomen, 3. von der Anzahl der Bruchflächen (Eine chromatidale Bruchstelle besitzt 2 Bruchflächen, die chromosomale Bruchstelle eines längsgespaltenen Chromosoms 4 Bruchflächen usw., vgl. Abb. 6), 4. von der Restitutionsbereitschaft der vorhandenen Bruchflächen.

Es sind daher verschiedene Ausgangslagen für Restitutionsvorgänge möglich, die wir in Abb. 6 dargestellt haben. Je nach der Anzahl der Bruchstellen unterscheiden wir Ausgangslagen, welche zu Einbruch (Abb. 6 A1–3), Zweibruch (Abb. 6 B1–5, C1–4), Drei- und Mehrbruchrestitutionen führen. Je nach der Lage der restituierenden Brüche kennen wir Anordnungen der potentiellen Brüche, auf welche die Zweibruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms (Abb. 6, B1–5) oder zwischen zwei (und mehr) Chromosomen (Abb. 6, C1–4) zurückgehen. Je nach dem Spaltungs-zustand der Chromosomen sind Restitutionsvorgänge am ungespaltenen Chromosom (Abb. 6, A1, B1, C1) möglich, die Längsspaltung läuft dann erst nach vollzogener Restitution ab, oder es sind chromatidale Bruchstellen mit je 2 Bruchflächen (Abb. 6, A2, B2, B3, C2) bzw. chromosomale Bruchstellen mit 4 Bruchflächen (Abb. 6,

A3, B5, C4) vorhanden, unter denen Restitutionsvorgänge möglich sind. Schließlich können auch chromosomale und chromatidale Bruchstellen (Abb. 6, B4, C3) miteinander restituieren. Je nach der Restitutionsbereitschaft der Bruchflächen sind Partialrestitutionen zu erwarten, wenn nur ein Teil der vorhandenen Bruchflächen zu einem neuen Ganzen zusammentritt und der übrigbleibende Teil als freie Fragmentationsbruchflächen sich erhält. Oder es werden Totalrestitutionen gebildet, wenn von den eintretenden Verteilungen keine Bruchfläche ausgeschlossen bleibt.

Eine systematische Entwicklung aller denkbaren Möglichkeiten der Ein- und Zweibruchrestitutionen ist durch MARQUARDT¹ erfolgt. Dabei hat sich ergeben, daß trotz der Verschiedenheit der Ausgangslagen und der zahlreichen Einzelmöglichkeiten bestimmte Typen von Konfigurationen immer wieder auftreten. Es lassen sich zunächst zwei große Gruppen voneinander unterscheiden, nämlich die kleinere der Umbauten ohne begleitenden Stückverlust und die wesentlich umfangreichere der Restitutionsvorgänge mit gleichzeitigem Stückverlust oder bizentrischen Chromosomen. Jede Gruppe setzt sich dabei aus Konfigurationen zusammen, welche durch Restitutionsvorgänge zwischen Bruchflächen innerhalb eines Chromosoms oder zwischen Bruchflächen verschiedener Chromosomen zustande kommen.

Zur Gruppe der stückverlustfreien Umbauten innerhalb eines Chromosoms gehören: 1. Die Rückrestitutionen zum Ausgangszustand, welche zu einer Wiederherstellung des Normalzustandes vor dem Bruch führen. Sie sind bereits in der ersten Mitose nach der Bestrahlung verschwunden, so daß ihre Anzahl nicht direkt bestimmt werden kann, sondern auf Umwegen

¹ U. FANO, Cold Spring Harbor Symp. 9, 113 (1941).

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941).

erschlossen werden muß. 2. Die *Inversionen* als Folge von Restitutionsvorgängen, welche eine umgekehrte Einfügung des zwischen den Bruchstellen gelegenen Chromosomensegments in das neue Chromosomen-Ganze bewirken (Abb. 7a); bezeichnen wir wie in Abb. 6, B1 einzelne Chromosomensegmente mit den Buchstaben $a/bcd/e$, wobei die Striche die Bruchstellen symbolisieren sollen, erhalten wir also als neues Chromosom $a/dcb/e$. Von einer symmetrischen Inversion sprechen wir, wenn das Zentromer innerhalb des invertierten Segments liegt, von einer asymmetrischen, wenn sie sich nur in einem der beiden Chromosomenschenkel abspielt.

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind diese Konfigurationen nur nachzuweisen, wenn sie chromatidal erfolgt sind, d. h. von den Ausgangslagen B2, B3 und B4 der Abb. 6 sich herleiten. Betrifft die Inversion beide Chromatiden (Ausgangslage B1 und B5) so findet man sie in der Metaphase nur dann, wenn sie symmetrisch ist und eine Längenverschiebung der Schenkel eines identifizierbaren Chromosoms bewirkt. In der Meiosis einer F_1 aus einem unveränderten und einem umgebauten Chromosomensatz dagegen (Mc. CLINTOCK¹) oder in den Speicheldrüsenkernen (PAIN-TER²) ist eine Inversion fast immer zu fassen.

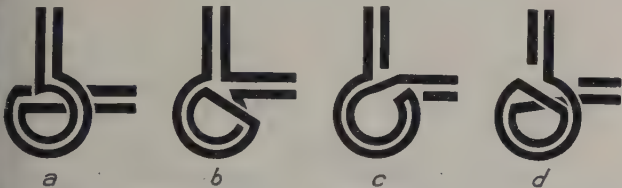


Abb. 7. Schemata lebensfähiger Zweibruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms.

- a Inversion (Ausgangslage Abb. 6, B1 und 5).
- b Einfache Duplikation (Ausgangslage Abb. 6, B3, B5).
- c Invertierte Duplikation (Ausgangslage Abb. 6, B5).
- d Doppelt invertierte Duplikation (Ausgangslage Abb. 6, B5).

3. Die *Duplikationen*, welche eine Verdoppelung eines begrenzten Chromosomensegments bedeuten. Sie können innerhalb eines Chromosoms nur durch Einfügung eines Stücks des einen Chromatids in das andere erfolgen, so daß das Zustandekommen einer Duplikation im einen Chromatid einen entsprechenden interkalaren Stückverlust (Deletion) im Schwesterchromatid bedeutet. Die Ausgangslagen B3 und B5 führen bei entsprechender Bruchflächenkombination zu dieser Konfiguration mit der Reihenfolge der Segmente $a\ bcd/bcd/e$ (Abb. 7b). Nur asymmetrische, innerhalb eines Schenkels ablaufende Duplikationen erweisen sich als prinzipiell lebensfähig, d. h. den Teilungsablauf nicht mechanisch oder durch Stückausfall grob gefährdend.

4. Die *invertierten und doppelt invertierten Duplikationen*, welche etwas kompliziertere Erscheinungsfor-

men eines zur Stückverdoppelung führenden Umbaus darstellen und auf die Ausgangslage mit 2 Brüchen und 8 Bruchflächen (Abb. 6, B5) zurückgehen. Die invertierten Duplikationen besitzen die Anordnung der Segmente $abcd/dcb/e$ (Abb. 7c) und spielen in der Analyse der Speicheldrüsenchromosomen von *Drosophila* als «reversed repeats» eine nicht unbedeutende Rolle. Bei den doppelt invertierten Duplikationen ist nicht nur das neu eingefügte Segment invertiert, sondern auch das entsprechende, dem Chromatid eigene Segment, so daß $a/dcb\ dcb/e$ entsteht (Abb. 7d).

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind alle Formen der Duplikationen etwas schwierig nachzuweisen, da sie zumeist die Ausgangslage bewahren, und dadurch der Chromatidenverlauf selten ganz klar ist. In der Meiosis oder in der Speicheldrüse werden sie ebenso wie die Inversionen gefunden, wenn auch nicht ganz so leicht wie diese.

Zu dieser ersten Gruppe gehören als Restitutionen zwischen *zwei* Chromosomen ferner noch:

5. Die *symmetrischen Chromatidtranslokationen*, welche durch eine Restitution zweier chromatidal gebrochener Chromosomen entstehen (Ausgangslage C2 der Abb. 6, vollzogene Restitution in Abb. 5b). Die gegenseitige Zuordnung der beiden Chromosomen muß dabei eine derartige sein, daß die Austauschchromatiden nicht dizentrisch bzw. azentrisch werden.

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind vor allem in der Pro- und Metaphase diese Konfigurationen mit besonderer Deutlichkeit nachzuweisen. Da durch die Anaphase aber die Chromatiden zu selbständigen Tochterchromosomen werden, verliert die Chromatidtranslokation ihren wesentlichen Charakter und ist darum bereits in der zweiten Mitose nach der Bestrahlung nur noch als reziproke Translokation schlechthin vorhanden, ganz abgesehen davon, daß in 50% der Fälle eine nicht lebensfähige Chromosomenverteilung zu erwarten ist (MARQUARDT¹).

6. Die *symmetrischen chromosomalen Translokationen*, welche entweder auf eine Ausgangslage mit ungespaltenen Chromosomen (Abb. 6, C1) oder mit gespaltenen, chromosomal fragmentierten Chromosomen (Abb. 6, C4) zurückgehen. Auch hier muß die Restitution der Bruchflächen so erfolgt sein, daß keine di- und azentrischen Chromosomen entstehen.

In der ersten Mitose nach der Bestrahlung wird diese Konfiguration nur dann gefunden, wenn eine Längenänderung von Chromosomenschenkeln damit verbunden ist (Abb. 8). In der Meiosis und in Speicheldrüsen von *Drosophila* macht ihre Feststellung im heterozygoten Zustand keine Schwierigkeiten.

Obgleich alle 6 genannten möglichen Typen weder freie Bruchflächen noch Stückverluste für den betreffenden Kern bedeuten, in dem sie sich befinden, haben nicht alle dieselbe Aussicht, über zahlreiche

¹ B. Mc. CLINTOCK, Z. Zellf-mikr. Anat. 19 (1933).
² T. S. PAINTER, Genetics 19, 173 (1934).
¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 32, 401 (1938); Flora 35, 239 (1941).

Zellgenerationen in einem längeren Entwicklungsablauf sich zu behaupten. Am «kurzlebigsten» sind hier die Chromatidtranslokationen, welche sofort nach der ersten Mitose in reziproke Translokationen übergegangen sind. Ihnen folgen die Duplikationen, welche bei *Drosophila* gegenüber den Inversionen fast ganz

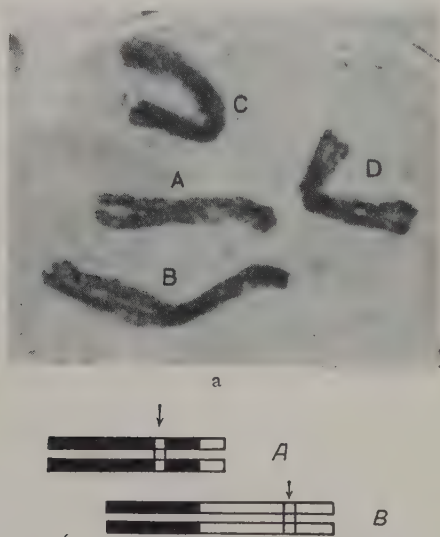


Abb. 8. *Bellevalia romana*. Metaphase der Pollenmitose mit einer reziproken, chromosomal Translokation zwischen Chromosom A und B.
a) Photographie, b) Schema der Translokation.

Pfeil = Insertionsstellen der Chromosomen. (Vergr. etwa 2000mal.
(Nach MARQUARDT¹).

zurücktreten (BAUER², KAUFMANN³). Allein die Inversionen aller Art und die chromosomalen symmetrischen Translokationen laufen ohne Einschränkungen durch alle Kernteilungen und damit durch den Entwicklungsablauf. Aber die Meiosis stellt auch für sie eine Barriere dar, durch welche wenigstens ein Teil von ihnen ausgeschaltet werden kann; für die Translokationen liegen speziell darauf gerichtete Einzeluntersuchungen von MARQUARDT⁴ vor.

Die zweite Gruppe der Restitutionen, welche die durch Stückverluste nicht lebensfähigen Umbauten umfaßt, sei hier nur in zwei charakteristischen Beispielen einzeln besprochen. Am häufigsten sind:

1. Alle *Partialrestitutionen*, welche unter den Kombinationsmöglichkeiten aller Ausgangslagen mit steigender Bruchflächenzahl zahlenmäßig immer mehr überwiegen. Gleichgültig, ob es sich dabei um Restitutionen innerhalb eines Chromosoms oder zwischen zwei und mehr Chromosomen handelt, stets sind freie Bruchflächen und dadurch azentrische Chromosomenstücke vorhanden, welche durch ihren Ausfall einen letalen Stückverlust für Kern und Zelle zur Folge haben.

2. Die *Schwesterchromatidrestitutionen*, welche bei chromosomalen Brüchen durch Verheilung von Schwesterchromatidbruchflächen entstehen können. Wir erhalten so eine neue Konfiguration, welche einerseits aus zwei bogenförmig vereinigten Schwesterchromatiden mit zwei Zentromeren, andererseits aus einem einheitlichen, azentrischen Fragment besteht, welches sich ebenfalls durch bogenförmige Vereinigung der restlichen zwei Schwesterchromatiden bildete (Abb. 9) die Bruchflächen des azentrischen Fragments sind allerdings unrestituiert geblieben). In der Anaphase der ersten Mitose nach der Bestrahlung kommt es dann durch das regelmäßig eintretende gegensinnige Funktionieren der beiden Zentromeren innerhalb des bizentrischen Tochterchromosoms zu einer Brücke zwischen den Tochterkernen, die entweder durch die Anaphasebewegung durchrissen oder bei der Zellteilung durchtrennt werden muß. Außer dieser, den Mitoseablauf stark hemmenden Störung ist noch ein azentrisches Fragment oder bei Partialrestitution (Abb. 9) deren zwei vorhanden. Derartige Zellen eliminieren sich daher mit besonderer Gründlichkeit.

Hieran schließen sich noch 5 weitere Konfigurationstypen an, welche ohne Einzelbesprechung nur aufgezählt seien, die symmetrischen Duplikationen, die Ringe und Deletionen, die Chromosomen mit gleichen Enden, die asymmetrischen Chromatid- und chromosomalen Translokationen und die lateralen Translokationen.

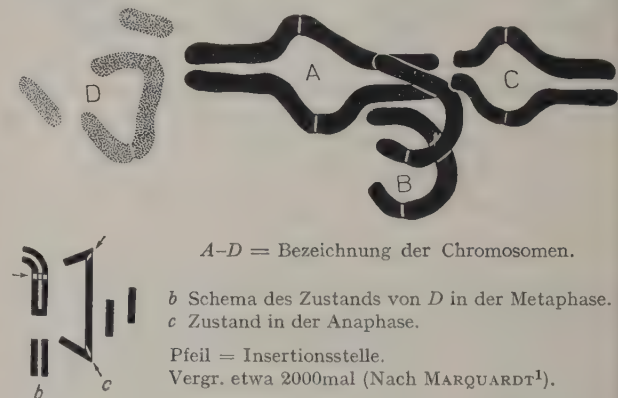


Abb. 9. *Bellevalia romana*. Frühe Anaphase der Pollenmitose mit Schwesterchromatidrestitution im D-Chromosom (Partialrestitution).

Noch mannigfaltiger wird das Bild, wenn nicht nur Restitutionen zwischen zwei, sondern auch zwischen drei und mehr Bruchstellen in Betracht gezogen werden. In der ersten Mitose nach der Bestrahlung sind derartige komplexe Restitutionen nur in den einfacheren Fällen sicher zu analysieren (Abb. 10, Vierbruchrestitution zwischen 3 Chromosomen). In den Speicheldrüsen von *Drosophila* liegen dagegen günstigere Bedingungen vor, so daß KAUFMANN sogar eine 32 Brüche umfassende, lebensfähige Restitution

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941).

² H. BAUER, Chromosoma 1, 343 (1939).

³ B. P. KAUFMANN, Cold Spring Harbor Symp. 9, 82 (1941).

⁴ H. MARQUARDT, Flora 35, 239 (1941) und Z.I.A.V. (im Druck).

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941).

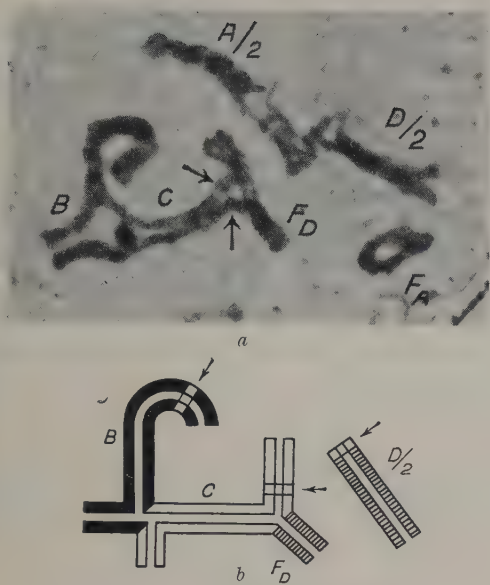


Abb. 10. *Bellevalia romana*. Metaphase der Pollenmitose mit einer Vierbruchrestitution zwischen Chromosom B, C und D sowie einer vollständigen, chromosomal Fragmentation des A-Chromosoms.

a Photographie.

b Schema der Translokationsfigur.

Pfeile = Insertionsstellen.

FA, D Bruchstücke der Chromosomen A und D.

Vergr. etwa 2000mal (Nach MARQUARDT¹).

zu klären vermochte (DEMEREK, KAUFMANN, FANO, SANSOME und GAY²).

Im ganzen gesehen können wir die möglichen Chromosomenveränderungen des Sekundäreffekts, nämlich die Fragmentationen und Restitutionen nach ihren Auswirkungen in der Zelle in drei Gruppen unterteilen. Die erste größte Gruppe umfaßt die Aberrationen mit bestehendem oder drohendem Stückverlust; sie setzt sich aus den Fragmentationen, allen Partialrestitutionen und den aufgezählten, nichtlebensfähigen Totalrestitutionen zusammen. Die zweite Gruppe enthält die Chromosomenumbauten ohne unmittelbar hemmende Wirkungen auf die Formwechselprozesse des Zellkerns. Sie sind aus der Zytogenetik als «die Chromosomenmutationen» bekannt und wurden vor allem von der *Drosophila*-forschung lange als die einzig wesentlichen Eingriffe gehalten. Die dritte Gruppe besteht schließlich aus den Rückrestitutionen zum Ausgangszustand, die sich jeder direkten Beobachtung entziehen und darum am längsten unberücksichtigt blieben.

2. Quantitative Analyse

a) Fragmentationen

Über den Anteil der Fragmentationen an den sichtbaren Röntgenveränderungen des Sekundäreffekts kann nur dort etwas ausgesagt werden, wo die Analyse auf die Erfassung aller irgendwie faßbarer Chromosomenveränderungen gerichtet ist und sich nicht nur

auf einzelne Konfigurationstypen beschränkt. Bei der Pollenmitose von *Bellevalia*, wo diese Voraussetzung bisher erfüllt ist, unterscheiden sich die Werte bei verschiedenen Dosen erheblich, indem ihr Anteil bei 150 r zwischen 50–60% der sichtbaren Aberrationen beträgt, bei 300 r auf 40% und bei 450 r auf 20% absinkt (MARQUARDT¹). Mit steigender Dosis nehmen somit die Restitutionen bedeutend rascher zu als die Fragmentationen. Eine Verabreichung der Röntgendosis nicht in einer kurzen Zeit (Sekunden oder wenige Minuten), sondern in durch Pausen getrennten Fraktionen bleibt auf die Gesamthäufigkeit der Fragmente ohne Einfluß, gleichgültig ob die Fraktionierung sich über 16 Minuten (CATCHESIDE, LEA und THODAY²), über 80 Minuten (SAX³) oder über 7 Stunden (MARQUARDT¹) ausdehnt. Ferner zeigen die Fragmentationen eine Wellenlängenabhängigkeit, indem in der *Tradescantia*-pollenschlauchmitose bei einer Strahlung von 4,1 Å 1,1% der Zellen Chromatidbrüche besitzen, während bei der sehr weichen Strahlung von 8,3 Å nur 0,065% derartiger Fragmente auftreten (CATCHESIDE und LEA⁴).

Bei der Bestrahlung eines vergleichbaren Kernzustandes mit verschieden starker Dosis zeigen die Fragmentationen eine klare Dosisabhängigkeit. Sie steigen fast linear und damit streng proportional der Dosis in der Pollenmitose von *Tradescantia* an (SAX⁵), zeigen an demselben Objekt aber in den Versuchsreihen von THODAY⁶ und KOTVAL (unveröffentlicht)⁷ bei höheren Dosen eine geringe Abflachung der Kurve. Bei *Bellevalia* ist nach anfänglich linearem Anstieg diese Abflachung vorherrschend (MARQUARDT¹) während FABERGÉ⁸ und NEWCOMBE⁹ allerdings nur in einem Zweipunktversuch einen anderen Kurventyp erkennen, der einer quadratischen, nicht linearen Dosisabhängigkeit nahekommmt.

Wenn in den bestrahlten Kernen dabei die Fragmente durch die Röntgenstrahlen dem Zufall nach ausgelöst werden und nicht etwa eine Fragmentation eine oder mehrere andere in dem betreffenden Zellkern nach sich zieht, dann müssen die Kerne mit 0, 1, 2 und mehr Fragmentationen in einer Häufigkeit gefunden werden, welche einer Poisson-Verteilung entspricht. Bei allen daraufhin untersuchten Objekten, wie *Chortophaga* (CARLSON¹⁰) *Bellevalia* (MARQUARDT¹¹) und *Tradescantia* (THODAY, unveröffentlicht)¹² ist diese Verteilung tatsächlich festgestellt worden.

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 37, 241 (1942).

² D. G. CATCHESIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, J. Genet. 47, 137 (1946).

³ K. SAX, Cold Spring Harbor Symp. 9, 93 (1944).

⁴ D. G. CATCHESIDE und D. E. LEA, J. Genet. 45, 186 (1943).

⁵ K. SAX, Genetics 25, 41 (1940).

⁶ I. M. THODAY, J. Genet. 43, 189 (1942).

⁷ E. KOTVAL, zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

⁸ A. C. FABERGÉ, J. Genet. 39, 229 (1940).

⁹ H. B. NEWCOMBE, J. Genet. 43, 237 (1942).

¹⁰ T. G. CARLSON, Proc. Nat. Acad. Sci. 27, 42 (1941).

¹¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

¹² E. KOTVAL, zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

¹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

² M. DEMEREK, B. P. KAUFMANN, E. R. SANSOME, U. FANO und E. H. GAY, Carnegie Inst. of Wash. Year Book 42, 139 (1943).

Über die Häufigkeit der Fragmente entscheidet nicht allein die Röntgendosis, sondern auch der physiologische Zustand der bestrahlten Kerne, der sich während der Pollenkeimung infolge der plötzlich einsetzenden Wasseraufnahme, Quellung und physiologischen Aktivität besonders nachhaltig ändert (SWANSON¹).

Auf den einzelnen Chromosomen innerhalb eines Kerns sind die Fragmentationen entsprechend der Chromosomenlänge verteilt, indem ein Chromosom oder ein Chromosomenschenkel um so häufiger fragmentiert wird, je länger er ist (MARQUARDT²). Innerhalb eines Chromosomenschenkels sind jedoch die Fragmentationen nicht an allen Stellen gleich häufig, denn in der Pollenmitose von *Bellevalia* (MARQUARDT²) und der Pollenschlauchmitose von *Tradescantia* (SWANSON¹) sind sie in endennahen Segmenten gehäuft, während sie zentromerwärts immer seltener werden. In der Pollenmitose von *Tradescantia* finden dagegen SAX und MATHER³ gerade die umgekehrten Verhältnisse.

Da die Fragmentationen nicht in einer einheitlichen, sondern in verschiedenartigen Erscheinungsformen auftreten, lassen sich quantitative Aussagen auch für diese Untergruppen machen. Am auffälligsten erscheint dabei der Gegensatz der chromosomalen zu den chromatidalen Fragmenten. Wird in größerem zeitlichen Abstand von der Kernteilung bestrahlt, dann reagiert das Chromosom als ungespaltenes und erscheint chromosomal fragmentiert. Von einem bestimmten Zeitpunkt ab – meist 24–36 Stunden vor dem Beginn der Mitose – erfolgt dann ein Umschlag des Chromosomenverhaltens, indem jetzt Chromatidfragmentationen in den Vordergrund treten. Diese Verhältnisse haben sich bei allen bisher untersuchten Objekten finden lassen; eine Gesetzmäßigkeit im Eintritt des Umschlags scheint nach den bisherigen Ergebnissen nicht vorzuliegen – es handelt sich hier wohl um eine Spezifität der einzelnen Pflanzen oder Tiere (NEWCOMBE⁴).

In der Phase, da die chromatidalen Fragmente vorherrschen, das Chromosom also als längsgespaltenes Gebilde reagiert, verschwinden die chromosomalen Fragmente nicht vollständig, sondern sind in einer wechselnden Häufigkeit noch immer vorhanden. Es liegen gute Gründe für die Annahme vor, daß hier die Röntgenstrahlen trotz der wirksam gewordenen Längsspaltung beide Chromatiden gleichzeitig durchtrennen konnten. Diese Fälle werden unter dem Namen «Isochromatidfragmentationen» zusammengefaßt; ihre Zahl ist um so geringer, je näher die Bestrahlung an die Mitose gelegt wird (*Tradescantia*-

pollenmitose, SAX¹) und *Tradescantiapollenschlauchmitose* (SWANSON²). Mit steigender Dosis nehmen sie dagegen auf Kosten der chromatidalen Fragmentationen zu (MARQUARDT³), während eine Fraktionierung der Dosis bis 16 Minuten ihre Zahl nicht verändert (CATCHESIDE, LEA und THODAY⁴).

Außer in chromosomale und chromatidale Brüche ließen sich die Fragmentationen auch in vollständige und unvollständige gliedern. Über ihre Häufigkeiten liegen nur bei *Bellevalia* Untersuchungen vor, nach denen mit steigender Dosis eine starke Abnahme der unvollständigen und eine ebensolche Zunahme der vollständigen Fragmente erfolgt (MARQUARDT³). Während die Fraktionierung einer Bestrahlung bis zu 10 Stunden die Gesamtzahl der Fragmentationen nicht ändert, geht dabei die Häufigkeit der vollständigen Brüche deutlich zurück und die unvollständigen dominierten immer mehr (MARQUARDT³).

b) Die Restitutionen

Der Anteil der Restitutionen an der Gesamtschädigung ist entsprechend den Erfahrungen mit der Fragmentationshäufigkeit bei verschiedenen Dosen nicht gleichbleibend; von 40–50% Anteil bei 50 und 150 r nehmen sie bei *Bellevalia*, wo fast alle Aberrationen erfaßt werden konnten, bis auf 80% bei 450 r zu (MARQUARDT⁵). Die Anzahl der Zahlen mit 0, 1, 2, 3 und mehr Restitutionen entspricht einer Poisson-Verteilung bei Berücksichtigung aller Restitutionen (MARQUARDT⁵) oder einer bestimmten Teilgruppe von ihnen (THODAY, unveröffentlicht⁶, BAUER⁷).

Die Dosisabhängigkeitskurve der Restitutionen steigt bei allen Untersuchungen in der ersten Mitose nach der Bestrahlung mit dem Quadrat der Dosis an (SAX^{8,9}, MARQUARDT⁵, THODAY¹⁰) doch werden reine Kurven dieses Typs nur erhalten, wenn in gleichbleibend kurzer Zeit die verschiedenen Dosen verabreicht werden (SAX⁹). Ist diese Bedingung nicht erfüllt, dann kommt es zu einer Kurve, welche zwischen linearer und quadratischer Dosisabhängigkeit liegt. Die verschiedenen möglichen Kurven sind von BAUER¹¹ rechnerisch zu den in der Treffertheorie der Strahlenwirkung üblichen Ein- und Mehrtrefferkurven in Beziehung gesetzt worden.

Eine Fraktionierung der Dosis über 7 Stunden führt zu einem Rückgang der Gesamtzahl von Restitutionen (MARQUARDT⁵); dasselbe gilt für die Chromatidtrans-

¹ C. P. SWANSON, J. Gen. Physiol. 26, 485 (1943).

² H. MARQUARDT, Ber. Dtsch. bot. Ges. 60, 48 (1942).

³ K. SAX und K. MATHER, J. Genet. 37, 483 (1939).

⁴ H. B. NEWCOMBE, J. Genet. 43, 145 (1942).

⁵ K. SAX, Cold Spring Harbor Symp. 9, 93 (1944).

⁶ C. P. SWANSON, J. Gen. Physiol. 26, 485 (1943).

⁷ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

⁸ D. G. CATCHESIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, J. Genet. 47, 137 (1946).

⁹ H. MARQUARDT, Z. Bot. 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

¹⁰ E. KOTVAL, cit. nach LEA (Cambridge, 1946).

¹¹ H. BAUER, Chromosoma 1, 343 (1939).

¹² K. SAX, Genetics 25, 41 (1940).

¹³ K. SAX, Cold Spring Harbor Symp. 9, 93 (1944).

¹⁴ I. M. THODAY, J. Genet. 43, 189 (1942).

¹⁵ H. BAUER, Chromosoma 2 (1940).

lokationen bei Fraktionierung über 16 Minuten (CATCHSIDE, LEA und THODAY¹) und für den erfaßten Teil der chromosomalen Restitutionen bei Fraktionierung über 60 Minuten (SAX², MARINELLI, NEBEL, GILES und CHARLES³).

Innerhalb der Kerne finden sich die Restitutionen auf den Chromosomen in einer Häufigkeit, welche der Chromosomenlänge entspricht (MARQUARDT⁴). Dies gilt auch für den lebensfähigen Anteil unter ihnen bei *Drosophila*, und zwar für die eu- und heterochromatischen Chromosomensegmente in gleicher Weise, vorausgesetzt allerdings, daß die Längenverhältnisse der Mitose- und nicht der Speicheldrüsen als Bezugssystem gewählt werden (KAUFMANN⁵).

Innerhalb der einzelnen Chromosomen sind die Restitutionen dagegen nicht dem Zufall nach verteilt, sondern finden sich bei *Bellevalia* in den zentromernahen Segmenten bevorzugt, mit einem statistisch bedeutsamen Abfall nach den endennahen Segmenten hin (MARQUARDT⁴). Dasselbe Verhalten stellte bereits SAX und MATHER⁶ für einen analysierten Ausschnitt aus dem Gesamtrestitutionsgeschehen an *Tradescantiapollenkernen* fest. Zu Translokationen schließen sich bei *Bellevalia* eher gleichgelagerte Chromosomensegmente zusammen, als daß etwa ein zentromernahes und ein endennahes Segment sich vereinigen. An *Drosophila* wurde von KAUFMANN⁵ die Verteilung von nicht weniger als 1400 lebensfähigen Restitutionen über das X-Chromosom untersucht. Die lebensfähigen Translokationen und Inversionen sind nicht zufallsmäßig über die einzelnen «divisions» und noch weniger über die «subdivisions» verteilt, sondern bestimmte kurze Segmente beteiligen sich an viel mehr Umbauten als ihnen zufallsmäßig zukäme.

Ferner ist vor allem an Restitutionen die Wirkung von verschiedenen anderen Eingriffen auf den Organismus in Kombination mit Röntgenbestrahlungen untersucht worden; so fand SAX⁷ bei einer Kombination mit einer Zentrifugierung die Restitutionszahl fast auf das Doppelte erhöht, während mit Colchicin eine Herabsetzung der Chromatidaberrationen auf $\frac{1}{3}$ des Wertes nach einfacher Röntgenwirkung eintrat (BRUMFIELD⁸). Röntgenbestrahlungen in tiefer Temperatur (+ 1°) lösen fast das Dreifache an Translokationen aus gegenüber einem Versuch unter hohen Temperaturen (+ 30°) SAX⁹, CATCHSIDE und THODAY,

unveröffentlicht¹). Mit Hilfe der Speicheldrüsenanalyse sind bei *Drosophila* Kombinationen mit Ultraviolett (KAUFMANN und HOLLAENDER²) und Infrarot (KAUFMANN, HOLLAENDER und GAY³, KAUFMANN⁴) in ihren Wirkungen analysiert worden, wobei die zusätzlich angewendeten Strahlenarten allein keine lebensfähigen Aberrationen auslösen.

Da Restitutionen nicht in einer einzigen, sondern in einer großen Anzahl von verschiedenen Erscheinungsformen auftreten, lassen sich die quantitativen Feststellungen auch auf diese einzelnen Typen anwenden, soweit sie mikroskopisch beobachtbare Veränderungen darstellen. Nach MARQUARDT⁵ ergibt sich, daß folgende Kombinationsgesetzmäßigkeiten potentieller Brüche bei *Bellevalia* gegeben sind: 1. Die Totalrestitutionen sind häufiger als die Partialrestitutionen, die nur 0,5–1,5% der Translokationen ausmachen, bei *Tradescantia* in der Pollenkern- und Pollenschlauchmitose dagegen mit 5–16% etwas häufiger sind (THODAY⁶, CATCHSIDE und LEA⁷, KOTVAL unveröffentlicht⁸). 2. Unter den Restitutionen kommt es meist zu Kombinationen mit gleichartigem Verhalten der Schwesterchromatidbruchflächen; ein voneinander unabhängiges Restitutionsverhalten dieser Bruchflächen ist selten.

Das zahlenmäßige Verhältnis der Zweibruchrestitutionen innerhalb eines Chromosoms und zwischen den Schenkeln zweier verschiedener Chromosomen ist bei den untersuchten Arten je nach der Zahl der Chromosomen und ihrer Schenkellänge verschieden. Bei *Bellevalia* liegt der Wert bei 1:3, wobei die größere Zahl die Translokationen bedeutet (MARQUARDT⁹). Nach der Formel von NEWCOMBE¹⁰ stimmt dies mit dem Erwartungswert bei zufallsmäßiger Kombination zweier Bruchstellen (1:2,8) gut überein. Bei *Tradescantia* schwankt unter verschiedenen Versuchsbedingungen der Wert zwischen 1:4,3 und 1:6,4 und erscheint so etwas höher als bei zufallsmäßiger Restitution (CATCHSIDE, LEA und THODAY¹¹); nach Neutronenbestrahlung ist er mit 1:11,4 bei demselben Objekt ganz zuungunsten der Restitutionen innerhalb eines Chromosoms verschoben (THODAY¹²). Eine ähnliche Bestimmung läßt sich auch an *Drosophila* mit Hilfe der Speicheldrüsen vornehmen, doch können dabei nur die lebensfähigen Inversionen und symmetrischen reziproken Translokationen be-

¹ Zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

² B. P. KAUFMANN und A. HOLLAENDER, *Genetics* 31, 368 (1946).

³ B. P. KAUFMANN, A. HOLLAENDER und E. H. GAY, *Genetics* 31, 349 (1946).

⁴ B. KAUFMANN, *Genetics* 31, 449 (1946).

⁵ H. MARQUARDT, *Z. Bot.* 36, 273 (1941).

⁶ I. M. THODAY, *J. Genet.* 43, 189 (1942).

⁷ D. G. CATCHSIDE und D. E. LEA, *J. Genet.* 45, 186 (1943).

⁸ E. KOTVAL, zit. nach LEA (Cambridge, 1946).

⁹ H. MARQUARDT, *Z. Bot.* 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

¹⁰ H. B. NEWCOMBE, *J. Genet.* 43, 145 (1942).

¹¹ D. G. CATCHSIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, *J. Genet.* 47, 137 (1946).

¹² I. M. THODAY, *J. Genet.* 43, 189 (1942).

¹ D. G. CATCHSIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, *J. Genet.* 47, 137 (1946).

² K. SAX, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 25, 225 (1939).

³ L. D. MARINELLI, B. R. NEBEL, N. H. GILES und D. R. CHARLES, *Am. J. Bot.* 29, 866 (1942).

⁴ H. MARQUARDT, *Ber. Dtsch. bot. Ges.* 60, 48 (1942).

⁵ B. P. KAUFMANN, *J. Exp. Zool.* 102, 293 (1946).

⁶ K. SAX und K. MATHER, *J. Genet.* 37, 483 (1939).

⁷ K. SAX, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 29, 18 (1943).

⁸ R. T. BRUMFIELD, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 29, 190 (1943).

⁹ K. SAX, *Genetics* 25, 41 (1940); 32, 75 (1947).

rücksichtigt werden. Gegenüber einer zufallsmäßigen Beteiligung der Chromosomenschenkel an Aberrationen treten über das Doppelte mehr Inversionen als Translokationen auf, d. h. es liegt eine Verschiebung des Verhältnisses zugunsten der Restitutionen innerhalb eines Chromosomenschenkels vor (BAUER¹, KAUFMANN²). Ob diese Verschiebung durch den besonderen Zustand des Chromatins im Spermienkopf oder durch ungleichartiges Überleben von ursprünglich vorhanden gewesenen Restitutionen anderer Verteilung aufzufassen ist, bleibt ungewiß.

Das Verhältnis der Einbruch- zu den Mehrbruchrestitutionen sowie dasjenige der drei Translokationstypen (chromatidal, chromosomal, lateral) ist von der Reaktionsweise der Chromosomen zur Zeit der Bestrahlung abhängig. Je mehr chromosomal erfolgte potentielle Brüche vorliegen, desto zahlreicher können Einbruchrestitutionen und chromosomale Translokationen gegenüber den anderen Konfigurationen eintreten (MARQUARDT³). Das Verhältnis von symmetrischen zu asymmetrischen Translokationen schwankt bei verschiedenen Versuchsbedingungen zwischen 55:45 und 20:80 (NEWCOMBE⁴, SWANSON⁵, CATCHESIDE und LEA⁶, CATCHESIDE, LEA und THODAY⁷).

Im Gegensatz zu den bisher besprochenen Restitutionen sind über die *Rückrestitutionen zum Ausgangszustand* nur indirekte Aussagen möglich. Auf Grund der beobachteten Kombinationsgesetzmäßigkeiten von Bruchflächen ermittelte erstmals MARQUARDT¹ einen Näherungswert, der bei etwa 50% der gesamten, ausgelösten potentiellen Brüche liegt. LEA² ging von seiner biophysikalischen Hypothese der Aberrationsentstehung aus und fand 5 rechnerische Wege der Bestimmung von Rückrestitutionshäufigkeiten. Er kam dabei zu noch höheren Werten, die bei etwa 90% der Gesamtzahl der potentiellen Brüche liegen. Beide, methodisch so verschiedenen Bestimmungen sind sich somit darin einig, daß die Anzahl der durch die Bestrahlung eintretenden potentiellen Brüche mindestens um das Doppelte höher liegt, als die mikroskopisch sichtbaren Aberrationen angeben.

3. Die Hypothesen der Aberrationsentstehung

Während über das Zustandekommen des Primäreffekts kaum begründete Vorstellungen vorliegen, ist ein geschlossenes Hypothesengebäude der Entstehung des Sekundäreffekts errichtet worden. Es besteht in einer Anwendung der biophysikalischen Treffertheorie

auf diesen Spezialfall. Hierzu ist notwendig, daß die Vielfältigkeit der beobachteten Aberrationen auf einen gemeinsamen Grundvorgang zurückgeführt wird, welcher als das «primäre Ereignis» im Sinne eines oder mehrerer «Treffer» angesehen werden kann. Dies geschieht durch die Grundannahme, die Energieabsorption ereigne sich nur an lokal begrenzten Stellen und jedes derartige primäre Ereignis führe zu einem potentiellen Bruch. Entscheidend ist dabei, daß somit das Chromosom nur eine *einzig*e Reaktionsweise auf die Energieabsorption besitzen darf. Denn das weitere Verhalten des potentiellen Bruches – die Manifestation als Fragmentation oder Restitution – ist nicht von ihm selbst, sondern von seiner Lage im Kern, der Anzahl der in der Nachbarschaft vorhandenen Brüche und der Größe des sog. Rekombinationsbereiches abhängig, d. h. es handelt sich hierbei um ein statistisches Problem. Die Röntgenschädigung wird daher als Grundlage der treffertheoretischen Berechnungen, durch die Summe der beobachteten Fragmentationen und der Zahl der in Restitutionen feststellbaren Bruchstellen einschließlich der Rückrestitutionen ermittelt.

Als wesentlichste Ergebnisse, die auf dieser Grundlage erzielt wurden, sei nach LEAS Darstellung¹ herausgehoben: Es sind die beim Strahlendurchgang durch das Protoplasma entstehenden *Ionisationen* auf den Elektronenbahnen, welche trefferauslösend wirken, d. h. potentielle Brüche entstehen lassen. Nur die 0,3 μ langen Enden dieser Bahnen sind ausreichend dicht mit Ionisationen besetzt, daß innerhalb eines Chromatids von 0,1 μ Dicke ein Bruch eintreten kann, und zwar sind 15–20 Ionisationen hierzu notwendig. Nur weniger als 1 μ voneinander entfernte potentielle Brüche können eine Restitution untereinander eingehen. Zwischen Auslösung des potentiellen Bruches und Vollzug einer Restitution vergehen bei *Tradescantiapollenkernen* maximal 4 Minuten. Fragmentationen folgen einer Eintreffer-, Restitutionen einer Zweitrefferkurve, da unter ihnen die Zweibruchrestitutionen vorherrschen.

Die rechnerische Durchführung der Treffertheorie bei den Chromosomen führt aber an verschiedenen Stellen zu Schwierigkeiten, welche eine nachträgliche Komplikation der absichtlich zunächst einfach gehaltenen Grundannahmen erfordern, so daß sogar FANO² den erzielten, so detaillierten Ergebnissen nur vorläufigen Charakter zuerkannte. Aus denselben Beweggründen heraus hat erstmals MARQUARDT³ die Grundannahme von der einheitlichen Natur des primären Ereignisses verlassen. Er unterscheidet einen Fragmentations- von einem Restitutionstreffer, welche sich beide in molekularen Dimensionen ab-

¹ H. BAUER, *Chromosoma* 1, 343 (1939).

² B. P. KAUFMANN, *Cold Spring Harbor Symp.* 9, 82 (1941).

³ H. MARQUARDT, *Z. Bot.* 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

⁴ H. B. NEWCOMBE, *J. Genet.* 43, 145 (1942).

⁵ C. P. SWANSON, *Genetics* 27, 491 (1942).

⁶ D. G. CATCHESIDE und D. E. LEA, *J. Genet.* 45, 186 (1946).

⁷ D. G. CATCHESIDE, D. E. LEA und I. M. THODAY, *J. Genet.* 47, 137 (1946).

⁸ D. E. LEA, *Actions of radiations on living cells* (Cambridge, 1946).

¹ Vgl. nebenstehende Note 8.

² H. MARQUARDT, *Z. Bot.* 36, 273 (1941); 37, 241 (1942).

³ U. FANO, *Cold Spring Harbor Symp.* 9, 113 (1941)

bielen und verschiedene Reaktionsweisen beim Über-
 ung in die mikroskopische Dimension haben. Der als
 oberflächeninstabil» charakterisierte Chromosomen-
 t eines *Restitutionstreffers* heilt entweder *ad*
integrum aus oder vereinigt sich mit einem durch
 nen Fragmentationstreffer geschädigten Ort zu einer
 totalrestitution. Der als «Fragmentvorstufe» bezeich-
 ete Chromosomenort eines *Fragmentationstreffers*
 beteiligt sich entweder an dem geschilderten Restitu-
 tionsvorgang oder restituiert mit einer zweiten Frag-
 mentvorstufe zu einer Total- bzw. Partialrestitution.
 ohne Konnex mit anderen geschädigten Stellen wird
 ie Fragmentvorstufe ferner zu einer echten, unvoll-
 ändigen, vollständigen oder sogar die Umgebung der
 Bruchstelle erfassenden Fragmentation. Schließlich
 ann an den Folgezuständen einer Fragmentvorstufe
 ne Schwesterchromatid(einbruch)restitution ablau-
 n. Diese Hypothese erlaubt ohne Zusatzannahme
 ch eine Deutung der Vorgänge an den Chromosomen
 n Primäreffekt, indem die Fragmentation denselben
 Mechanismus besitzt, anstelle der Restitution dagegen
 ie Verklebung der Chromosomen tritt, welche auf die
 oberflächeninstabilen Stellen zurückgeht. Von treffer-
 theoretisch orientierter Seite wurde diese Hypothese
 ofort angegriffen und es entstand eine heftige Dis-
 ussion (BAUER¹, MARQUARDT²).

Aber auch unabhängig von dieser auf Deutschland
 eschränkten Auseinandersetzung scheint eine neue
 nruhe in die Beurteilung des Problems der Aber-
 tionsentstehung zu kommen, und zwar durch die
 achsende Einsicht, daß die *physiologischen* Vorgänge
 wischen Energieabsorption und mikroskopischer Ma-
 festation nicht nebensächlich oder formal behandelt
 erden dürfen wie in der treffertheoretischen Be-
 achtungsweise, sondern das eigentliche Haupt-

problem darstellen. So versuchte DARLINGTON¹ und
 DARLINGTON und LA COUR² auf Grund der Ergebnisse
 von CASPERSSON und Mitarbeitern über den Nuklein-
 säure-Stoffwechsel der Zelle, die Bruch- und Restitu-
 tionsbereitschaft auf röntgeninduzierte Störungen in
 der Nukleinsäure-Versorgung der Chromosomen zurück-
 zuführen. Aber auch hierbei sind nur morphologische
 Methoden — Analyse der auftretenden Aberrations-
 typen und färberisches Verhalten der Chromosomen —
 zur Anwendung gekommen, mit welchen gerade diese
 Vorgänge nur indirekt und unsicher zu fassen sind.
 Um die Diskussion daher auf festen Boden zu stellen,
 wird es notwendig sein, mit physiologischen Methoden
 die Fragestellung aufzugreifen, d. h. die Physiologie
 und den physiko-chemischen Zustand der Chromoso-
 men in Ruhe und Teilung vor und nach einer Be-
 strahlung zu bearbeiten.

Summary

X-ray induced aberrations of the cell nucleus are
 reviewed and classified as the so-called primary and
 secondary effects. The primary effects occur when
 actually dividing nuclei are irradiated and consist of
 retardation of the nucleus- and cell-divisions; of a
 change in the surface of chromosomes and chromatidia
 (stickiness, pyknosis); of anomalies in the chromosome
 spindles and the chromatidia; and of a change in the
 staining reaction of the nuclei. The secondary effects
 occur when resting nuclei are irradiated and are mani-
 fested by fragmentation (breaking of chromosomes) and
 restitution (healing of broken ends). Various types of
 restitution are discussed in detail. A survey is given
 concerning the quantitative analysis of fragmentation
 and restitution. Three different hypotheses of X-ray
 induced aberrations are briefly mentioned: The original
 Hit-Hypothesis of LEA, the author's own modified
 hypothesis of this, and the chemical hypothesis (disturb-
 ance of nucleic acid metabolism) of DARLINGTON.

¹ C. D. DARLINGTON in: Symp. Soc. exp. Biol. I, 252 (Cambridge, 1947).

² C. D. DARLINGTON und L. F. LA COUR. J. GENET. 46, 180 (1946).

¹ H. BAUER, Z. Botanik 38, 26 (1942).

² H. MARQUARDT, Z. Botanik 38, 42 (1942).

Brèves communications - Kurze Mitteilungen Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. - Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. - Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. - The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

Tetrapolare Sonnenfleckengruppen

Vom Verfasser¹ ist darauf hingewiesen worden, daß häufiger, als durch Zufall bedingt sein kann, einer Sonnenfleckengruppe in der heliographischen Breite β und in der heliographischen Länge λ eine solche mit den genäherten Koordinaten $-\beta, \lambda$ entspricht. Die Fortsetzung der Untersuchungen hat zu dem Resultat geführt, daß der primären Fleckengruppe auch eine solche an der Stelle $-\beta, \lambda + \pi$ entspricht, und dieser wiederum eine solche am Ort $\beta, \lambda + \pi$. Es bilden somit die vier Gruppen (β, λ) , $(-\beta, \lambda)$, $(\beta, \lambda + \pi)$, $(-\beta, \lambda + \pi)$ zusammen einen einzigen Störungsherd. Wir bezeichnen in Zukunft solche als tetrapolare Störungsherde.

Die Zuordnung der Fleckengruppen zu den einzelnen Störungsherden bereitet oft Schwierigkeiten, besonders wenn viele Fleckengruppen vorhanden sind, aber auch zufolge des Umstandes, daß stets nur die halbe Sonnenoberfläche zur Beobachtung gelangt und deshalb kurzlebige, auf der Sonnenrückseite aufgetretene Fleckengruppen überhaupt nicht beobachtet werden, und ferner durch den Umstand, daß die vier zusammengehörigen Gruppen oft mit erheblichen Zeitunterschieden auftreten und von der streng symmetrischen Anordnung oft beträchtlich abweichen können.

Eine ausführliche Publikation erscheint in den «Astronomischen Mitteilungen der Eidg. Sternwarte».

M. WALDMEIER

Zürich, den 10. November 1948.

Summary

It is shown that sun-spot groups generally are members of what is called a tetrapolar solar disturbance. Such a disturbance consists of four sun-spot groups occurring at almost the same time in the following positions of the sun's surface: (β, λ) , $(-\beta, \lambda)$, $(\beta, \lambda + \pi)$, $(-\beta, \lambda + \pi)$, β and λ denoting heliographic latitude and longitude.

¹ M. WALDMEIER, *Ergebnisse und Probleme der Sonnenforschung* (Leipzig 1941), S. 132.

Lokalisationsversuche am Fischgehirn

Bei seinen Untersuchungen über den Sitz des Assoziationsvermögens im Fischgehirn fand NOLTE¹ (1933), daß Exstirpation des gesamten Vorderhirns die Dressurfähigkeit von Stichlingen (*Gasterosteus aculeatus*) und Elritzen (*Phoxinus laevis*) auf optische Reize (Farben und Formen) nicht aufhob. Auch nach lokaler Beschädigung des Kleinhirns durch Bohrlöcher in die Molekularschicht des Corpus cerebelli ließen sich bei Elritzen noch Dressurreaktionen auf Farben erzielen. Dieses letztere Ergebnis besagt nicht viel, denn die Ausschaltung des betreffenden Gehirnteils war sehr unvollständig. Eine umfassendere Entfernung des Corpus cerebelli gelang NOLTE nicht; die geplanten Eingriffe am Mittelhirn (Tectum opticum) wurden anscheinend nicht durchgeführt.

tum opticum) wurden anscheinend nicht durchgeführt.

Im folgenden soll kurz über Versuche dieser Art berichtet werden, die vor einigen Jahren vom Verfasser begonnen und kürzlich von Frau J. C. v. NOORDWIJ v. VEEN weitergeführt wurden¹.

Bei einer Anzahl von Elritzen wurde das Tectum opticum (einschließlich der Tori longitudinales) ein- bzw. beidseitig vollständig abgetragen. Die Tiere lagen dabei in Urethannarkose unter der binokularen Lupe auf einem Operationstischchen². Nach Eröffnung des Schädels und Entfernung des Mittelhirndachs (Tectum opticum) wurde das Operationsloch mit einem Hautlappen geschlossen. Nach Beendigung der Versuche wurden die Fische getötet und der Operationserfolg an Schnittserien kontrolliert. Wird die Operation richtig durchgeführt, d.h. ohne Verletzung der Tori semicirculares, dann unter dem Tectum opticum liegen und mit ihm durch zahlreiche, kranzförmig angeordnete Faserbündel verbunden sind, dann schwimmen die Tiere normal und im Gleichgewicht herum und gehen ohne Unterbrechung auf Futter. Es wurden folgende Störungen des Gesichtsinns und Gehörsinns, sowie des Farbwechsels festgestellt:

Nach einseitiger Exstirpation des gesamten Tectum opticum ist der Fisch an der gegenüberliegenden Seite erwartungsgemäß blind. Durch Vorhalten von Futter bröckchen ergibt sich, daß das Gesichtsfeld des sehenden Auges vorne bis zur Medianebene reicht. Die Gesichtsfelder beider Augen überschneiden sich also kaum. Das selbe ist bei einem einseitig augenlosen, im übrigen aber intakten Tier zu beobachten. In beiden Fällen zeigten die einseitig operierten Fische beim langsamen Schwimmen eine geringe Neigung der Medianebene des Körpers nach der Seite des sehenden bzw. noch vorhandenen Auges. Nach einseitiger Entfernung des Tectum opticum, und dazu noch des Auges der gleichen Seite, war und blieb das Tier, wie das ja auch zu erwarten war, vollständig blind (Versuchsdauer 3 Wochen). Es wurde nur noch eine größere, über den Fisch gehaltene dunkle Gegenstände reagiert, wohl infolge der «Beschattung» des unigmetierten Scheitelflecks. Derartige Lichtreaktionen blind Elritzen werden nach SCHARER³ im Zwischenhirn ausgelöst. — Der lokalen Ausschaltung des Tectum opticum entspricht ein lokaler Defekt des Gesichtsfeldes, und zwar verursacht Entfernung des oberen Teiles des Tectum opticum Blindheit im hinteren Teil des Gesichtsfeldes. Nach teilweiser Ausschaltung des Tectum opticum kann noch auf Farben dressiert werden.

Über den Einfluß des Tectum opticum auf die Totalwahrnehmung wurde folgender Versuch angestellt: Ein augenlose Elritze war zunächst auf Mundpfeiff Futter (Tonhöhe etwa 1650 Hz). Nach einseitiger Totalexstirpation des Tectum opticum reagierte das Tier sofort wieder auf den Dressurton, nur waren die Reaktionsbewegungen bei den ersten Prüfungen etwas

¹ Vgl. dazu auch: F. K. SANDERS, *J. exper. Biol.* 17, 416 (1944).

² Siehe für Einzelheiten: K. v. FRISCH und H. STETTER, *Z. vergl. Physiol.* 17, 686 (1932).

³ E. SCHARER, *Z. vergl. Physiol.* 7, 1 (1928).

¹ W. NOLTE, *Z. vergl. Physiol.* 18, 255 (1933).

veniger lebhaft als zuvor. Nach Entfernung auch der weiten Hälfte fiel die Reaktion an den beiden folgenden Tagen aus (4 Fütterungen), obwohl der Fisch nach wie vor ruhig und ungestört herumschwamm und ausgezeichnet ans Futter ging. (Klopfen mit den Fingernägeln ans Aquarium wurde vom Tier wohl bemerkt.) Danach wurde über der Futterton wieder regelmäßig und deutlich mit Aufregung und Schnappbewegungen beantwortet.

Nach Entfernung der Augen gibt es bei Elritzen regelmäßig eine Dunkelfärbung. Blendet man die Tiere aber durch Exstirpation des Tectum opticum, dann tritt die Dunkelfärbung entweder nicht oder nur verzögert und abgeschwächt auf. Umgekehrt zeigte eine augenlose, bereits dunkelgefärbte Elritze nach der einseitigen Entfernung des Tectum opticum keine Änderung der dunklen Hauttönung, nach Entfernung der zweiten Seite aber sofort eine starke und teilweise anhaltende Aufhellung.

Weitere Einzelheiten über diese Versuche und über die Folgen der Exstirpation anderer Hirnteile sollen an anderer Stelle mitgeteilt werden. Es handelt sich hierbei z.B. um die Tori semicirculares, deren Beschädigung das Gleichgewicht stört. Ferner um das Corpus cerebelli, dessen weitgehende Abtragung (dorsaler Teil) entgegen der VOLTE technisch durchaus möglich ist und bei erhaltener Dressurfähigkeit auf Farbe und Schall keine Gleichgewichtsstörungen verursacht, wohl aber ein eigenartiges Verhalten: bewegungsloses Verharren, abgewechselt durch schreckhaftes Herumschießen durchs Aquarium mit Anprallen an die Wände, auch ohne äußere Reizung.

S. DIJKGRAAF

Zoologisches Institut der Universität Groningen, den 8. März 1948.

Summary

The effects of unilateral and bilateral removal of the tectum opticum on optic and acoustic reactions in fishes (*Phoxinus laevis*) are studied. Bilaterally operated animals are blind but perfectly equilibrated, if injury to the tori semicirculares has been avoided. One animal still reacted to a conditioned sound stimulus (1650 c.p.s.). The extreme dark colour taken on by eyeless animals is not shown after blinding through removal of the tectum opticum.

After removal of the corpus cerebelli (dorsal part) learning experiments with colours and sound stimuli are still successful and there is no loss of equilibrium, but the fishes exhibit a strange behaviour: most of the time they stay motionless in a corner, yet suddenly they may rush through the aquarium in an extremely frightened manner, heavily bumping against the walls.

Rapporti tra costituzione della protrombina e ipoprotrombinemie

Secondo la teoria emessa da QUICK¹ nel 1943, la protrombina risulterebbe costituita da due componenti: il fattore B, che scompare nell'intossicazione dicumarolica, nelle comuni ipoprotrombinemie, comprese quelle da avitaminosi K, e, *in vitro*, in seguito all'adsorbimento con idrossido di alluminio colloidale; e il fattore A, che diminuisce in seguito alla conservazione del plasma. Ulteriori osservazioni hanno permesso a QUICK di distinguere

questo labile dal componente A vero e proprio, che scompare in certe forme di ipoprotrombinemia idiopatica; QUICK¹ ha inoltre prospettato l'ipotesi che il componente A scompaia nell'avitaminosi K, attribuendo alle altre ipoprotrombinemie un deficit del componente B.

Continuando le ricerche di QUICK¹, abbiamo potuto distinguere le varie forme di ipoprotrombinemia in rapporto alla costituzione della protrombina sulla base dei seguenti criteri:

1.° *Ipoprotrombinemie da deficit di fattore B*: mescolando un plasma normale fresco con un plasma ipoprotrombinemico rispetto al fattore B, si ha un accorciamento del tempo di QUICK ma non la sua normalizzazione: probabilmente si stabilisce un valore medio tra il 100% di protrombinemia del plasma normale e la percentuale variamente abbassata del plasma ipoprotrombinemico. Anche con plasmi conservati si hanno risultati simili, dato che il fattore labile è presente in lieve eccesso. In questo modo si comportano ad esempio i plasmi dicumarolizzati e quelli trattati con idrossido di alluminio colloidale. Secondo QUICK¹ anche in certe forme di ipoprotrombinemia idiopatica si avrebbe un deficit di fattore B, rilevabile con questa metodica.

Tabella I

	Tempo di QUICK
Plasma dicumarolizzato	40"
Plasma adsorbito con Al(OH) ₃	>300"
Plasma normale conservato per 6 giorni a +4°	36"
Plasma normale fresco	18"
Plasma dicumarolizzato + plasma normale fresco	26"
Plasma dicumarolizzato + plasma normale conservato	27 1/2"
Plasma adsorbito + plasma normale fresco	22 1/2"
Plasma adsorbito + plasma normale conservato	24"

2.° *Ipoprotrombinemie da deficit di fattore A*: mescolando un plasma normale fresco con un plasma ipoprotrombinemico rispetto al fattore A, si ha una normalizzazione del tempo di QUICK: questo fatto si può interpretare ammettendo che sia sufficiente la quantità di fattore A, presente nel plasma normale, per ricondurre alla norma il tempo di QUICK allungato del plasma ipoprotrombinemico: infatti anche il fattore A sarebbe presente in lieve eccesso nei plasmi (QUICK¹); invece alle variazioni del fattore B sarebbe da attribuire una delle principali cause di oscillazione del tempo di QUICK¹. Solo quando il fattore A è fortemente diminuito si può rilevare col metodo di QUICK il suo deficit. Siccome il fattore A è adsorbibile con idrossido di alluminio colloidale come il fattore B, l'aggiunta di plasmi così trattati a plasmi con deficit di fattore A determina un ulteriore allungamento del tempo di QUICK, come si ha per diluizione con soluzione fisiologica. Che il tasso di fattore labile sia normale è dimostrato dal fatto che i plasmi normali conservati hanno la stessa azione di quelli freschi sui plasmi ipoprotrombinemici. Secondo questo schema si comportano i plasmi di soggetti con ittero da occlusione puro senza insufficienza epatica, e quelli con ittero da insufficienza epatica, nei quali si istituirebbe un deficit del fattore A e non del fattore B come si riteneva in passato. Alla stessa categoria appartengono anche i plasmi di

¹ A. J. QUICK, The Hemorrhagic Diseases and the Physiology of Hemostasis (Charles C. Thomas, Publisher, Springfield, Ill., 1942), Am. J. Physiol. 140, 212 (1943); Am. J. Physiol. 151, 63 (1947).

¹ A. J. QUICK, l. c.

Tabella II

	Tempo di QUICK
Plasma normale fresco I	18 1/2''
Plasma normale fresco II	19 1/2''
Plasma normale fresco III	17''
Plasma conservato I	20''
Plasma conservato II	27''
Plasma adsorbito con Al(OH) ₃	>300''
Plasma di ittero da occlusione	24 1/2''
Plasma di ittero con atrofia giallo-acuta	30''
Plasma di ittero con cirrosi I	23''
Plasma di ittero con cirrosi II	27''
Plasma di ittero catarrale	20''
Plasma di ittero da occlusione + plasma normale I	18''
Plasma di ittero da occlusione + plasma normale II	19 1/2''
Plasma di ittero da occlusione + plasma normale III	17 1/2''
Plasma di ittero da occlusione + plasma adsorbito	35''
Plasma di ittero con atrofia g. a. + plasma adsorbito	32''
Plasma di ittero con cirrosi I + plasma adsorbito	26 1/2''
Plasma di ittero con cirrosi II + plasma normale I	19 1/2''
Plasma di ittero catarrale + plasma normale I	18''
Plasma di ittero da occlusione + plasma conservato I	19''
Plasma di ittero da occlusione + plasma conservato II	20''

neonato con ipoprotrombinemia (QUICK¹). Alla presenza di fattore A in lieve eccesso nel plasma si può attribuire la mancata constatazione di ipoprotrombinemie col metodo di QUICK nel 50% dei casi di ittero da occlusione, come ha osservato QUICK¹ (1942).

Non è certo se esistono ipoprotrombinemie da deficit di fattore labile, data l'incertezza che regna ancora sulla natura di questo componente della protrombina: anche recentissime ricerche di STEFANINI² non hanno messo in evidenza alterazioni di questo genere.

Tuttavia la presenza di fattore labile (fattore A della antica classificazione di QUICK¹) è stata riconosciuta anche nel siero (MUNRO³ e coll.): se si mescolano dei

Tabella III

	Tempo di QUICK
Plasma normale	19''
Plasma di ittero con cirrosi	23''
Plasma di ittero con atrofia giallo-acuta	30''
Plasma normale + siero normale I (0,7 + 0,3 cm ³)	9''
Plasma normale + siero normale II (0,7 + 0,3 cm ³)	10''
Plasma normale + siero di ittero con cirrosi (0,7 + 0,3 cm ³)	13''
Plasma normale + siero di ittero con atrofia giallo-acuta (0,7 + 0,3 cm ³)	14''

¹ A. J. QUICK, l. c.
² M. STEFANINI, Clin. Nuova 6, 430 (1948). – A. J. QUICK e M. STEFANINI, J. Lab. e Clin. med. 33, 819 (1948).
³ F. L. MUNRO e M. P. MUNRO, Am. J. Physiol. 149, 95 (1947); 150, 409 (1947).

plasmi normali con sieri normali, secondo il procedimento già indicato da DE NICOLA¹ nel 1944, si ha forte accorciamento del tempo di QUICK, non riconducibile all'azione della trombina, già trasformata in metrombina inattiva. Con i sieri di itterici si ha pure forte accorciamento, ma di minore entità, forse dovuto in parte a deficit di fattore labile, o piuttosto alla presenza di sostanze inibitrici (DE NICOLA¹).

Secondo recenti vedute (MUNRO e coll.²) il fattore labile non sarebbe un componente della protrombina, data che è presente anche nel siero: la protrombina potrebbe essere perciò considerata anche come un principio risultante dall'unione dei fattori A e B con quello labile (QUICK³). Quest'ultimo può essere inattivato con la conservazione a pH neutro o meglio alcalino e riattivato con altre proteine presenti nel plasma o nel siero (fattore di MUNRO² o fattore labile di QUICK³).

Molti dati fanno pensare a delle analogie tra questi due fattori ancora poco noti della protrombina (fattore A e fattore labile) e altri descritti recentemente (accelerato globulin di WARE, MURPHY e SEEGER⁴, fattore V di OWREN⁵, protrombochinasi di MILSTONE⁶, globulina di FANTL⁷). Sono in corso ricerche dirette a chiarire questi rapporti e a istituire dei nessi con le forme di ipoprotrombinemia descritte più sopra.

P. DE NICOLA

Clinica Medica dell'Università di Pavia, il 18 agosto 1948.

Summary

After referring to the constitution of prothrombin and its isomers, it is generally accepted to-day (A-factor, B-factor, labile factor) the author describes procedures according to which it is possible to distinguish the forms of hypoprotrombinemia resulting from the lack of A- and B-factor respectively:— in the former are included the cases of dicumarol intoxication and those with plasma treated with colloidal aluminium hydroxide, in the latter those of K-avitaminosis (icterus with or without hepatic insufficiency). In this last condition it can be shown that the sera act differently from the normal ones, which probably is to be referred to a lack of A-factor.

¹ P. DE NICOLA, Arch. Sci. méd. 81, 179 (1946).
² F. L. MUNRO e M. P. MUNRO, Am. J. Physiol. 149, 95 (1947); 150, 409 (1947).
³ A. J. QUICK, l. c.
⁴ A. G. WARE, R. C. MURPHY e W. H. SEEGER, Science 106, 61 (1947). – A. C. WARE e W. H. SEEGER, J. Biol. Chem. 172, 69 (1948). – R. C. MURPHY, A. C. WARE e W. H. SEEGER, Am. J. Physiol. 151, 338 (1947). – A. C. WARE e W. H. SEEGER, J. Biol. Chem. 174, 365 (1948); Am. J. Physiol. 152, 567 (1948).
⁵ P. A. OWREN, The Coagulation of Blood (J. Chr. Gunderse Oslo, 1947).
⁶ J. H. MILSTONE, Science 106, 546 (1947); J. Gen. Physiol. 3, 301 (1948).
⁷ P. FANTL e M. NANCE, Nature 158, 708 (1946).

Über die Bedeutung der Nierentätigkeit für die Blutdruckwirkungen eines dehydrierten Ergotderivats, Dihydroergocornin¹

Neben der rein sympathikolytischen Wirkung auf die peripheren menschlichen Gefäße², ist Dihydroergocornin

¹ Über Chemie und Pharmakologie von Dihydroergocornin siehe
^{1a} A. STOLL und A. HOFMANN, Helv. chim. acta 26, 2070 (1943).
^{1b} E. ROTHLIN, Helv. physiol. acta 2, C 48 (1944).
^{1c} E. ROTHLIN, Bull. acad. Suisse Sci. méd. 2, 249 (1947).
² H. J. BLUNTSCHLI und R. H. GOETZ, Amer. Heart J. 35, 87 (1948).

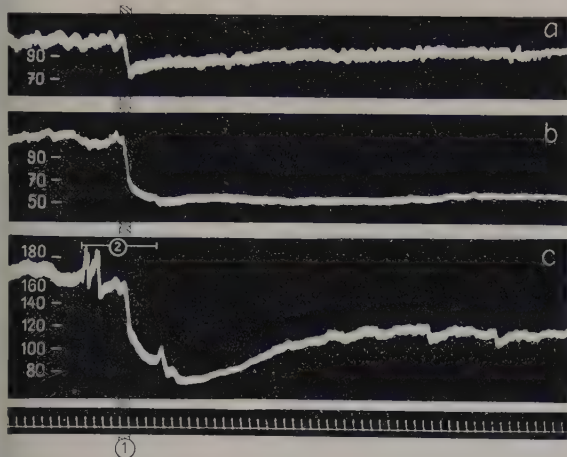


Abb. 1. Dihydroergocornin – Blutdruckwirkung an der Katze. *a* am Ganztier, *b* am nephrektomierten Tier und *c* während Abklemmen der Nierenarterien (bei ② Nierenarterien vorübergehend abgeklemmt). Bei ① intravenöse Infusion von 0,03 mg/kg DHO. Druckregistrierung blutig in der linken Karotis; Werte in mm Hg. Zeitmarkierung in Minuten. Reproduktion $\frac{1}{2}$ natürlicher Größe.

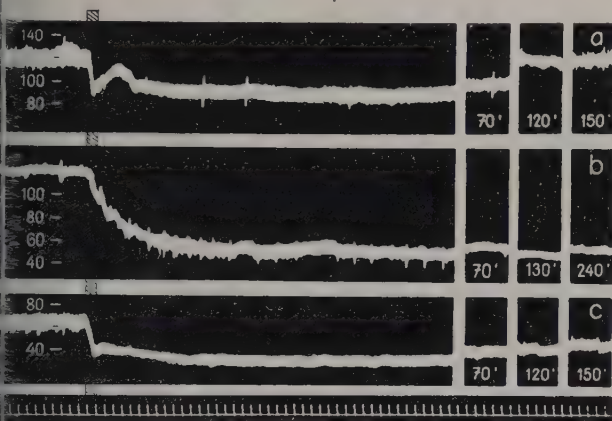


Abb. 2. Dihydroergocornin – Blutdruckwirkung am Hund. *a* am Ganztier, *b* am nephrektomierten Tier und *c* am Hund mit isolierter und am Hals implantierter Niere (siehe Text). Druckregistrierung in der rechten Arteria femoralis. Infusion, Zeitmarkierung und Reproduktion wie bei Abb. 1.

(DHO) von besonderem klinischen Interesse, weil es das erste Mutterkornderivat ist, welches den pathologisch gesteigerten Blutdruck in zahlreichen Hypertoniefällen zu senken vermag¹. Diese Befunde lassen Untersuchungen, die sich mit dem Wirkungsmechanismus dieser Substanz befassen, als besonders aktuell erscheinen.

Die Dihydroderivate der Ergotamin/Ergotoxin-Gruppe^{2a} wirken am anästhesierten Ganztier blutdrucksenkend^{2b}; am Spinaltier hingegen bewirken sie eine Blutdrucksteigerung^{2c}. Diese letztere ist nach ROTHLIN das Resultat einer direkten Alkaloidwirkung auf die Blutgefäße^{2c}.

In der vorliegenden Mitteilung wird die Blutdruckwirkung von Dihydroergocornin (0,03 mg/kg) im Tier-

versuch¹ vor-, während und nach Ausschaltung der Nierentätigkeit analysiert.

Versuchsergebnisse

1. Am *Ganztier* kommt es – nach Infusion i. v. von DHO – zu einem Blutdruckabfall um 20–40% des Ausgangswertes. Sekundär folgt ein langsamer Wiederanstieg des Blutdrucks (Abb. 1*a*, 3*f*). In einzelnen Versuchen wird zusätzlich – kurz nach Erreichen des tiefsten Wertes – ein vorübergehender steiler Blutdruckanstieg registriert (Abb. 2*a*).

2. Es wird festgestellt, daß, im Gegensatz zu den Verhältnissen am *Ganztier*, die Blutdruckwirkung von DHO – nach *doppelseitiger Nephrektomie* – eine einheitliche ist. Der Blutdruckabfall (Depressoreffekt) ist wesentlich ausgesprochener als am *Ganztier* und beträgt 40–60% des Ausgangswertes. Ein sekundärer Wiederanstieg des Blutdrucks (Pressoreffekt) läßt sich nicht nachweisen; vielmehr resultiert eine über Stunden anhaltende Blutdruckerniedrigung (Abb. 1*b*, 2*b*).

3. Nach *einseitiger Nephrektomie* gelangen – auf DHO – ähnliche Blutdruckwirkungen wie am *Ganztier* zur Beobachtung, wobei allerdings der sekundäre Pressoreffekt weniger ausgesprochen ist.

4. Werden beide *Nierenarterien* 3 Minuten vor der Infusion *abgeklemmt*, so kommt es – nach Dihydroergocornin – zu einem Depressoreffekt, welcher ebenso ausgesprochen ist wie am *nierenlosen Tier* (Abb. 1*c*). Wird 3 Minuten nach Verabreichen von DHO die Zirkulation durch die *Nierenarterien* wiederum freigegeben, so kommt es zuerst zu einem weiteren Blutdruckabfall, dem sekundär ein Blutdruckanstieg nachfolgt (Abb. 1*c*).

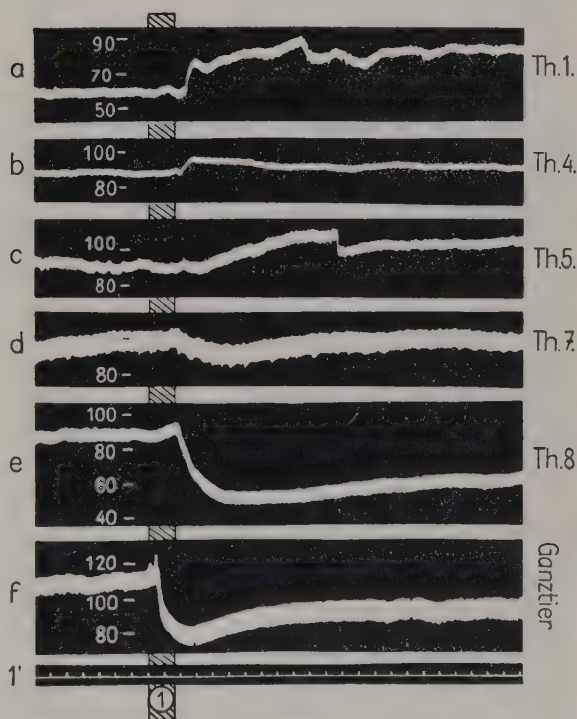


Abb. 3. Dihydroergocornin – Blutdruckwirkung am *Ganztier* (*f*) und (*a*–*e*) nach Querschnittsdurchtrennung des Rückenmarks auf der Höhe verschiedener Thorakalsegmente. Druckregistrierung in der linken Karotis. Infusion und Zeitmarkierung wie bei Abb. 1. Reproduktion: $\frac{1}{2}$ natürlicher Größe.

¹ H. J. BLUNTSCHLI, Proc. of the 34th S. Afr. Med. Congress, Knox Co., Durban, 1946), and S. Afr. Med. J. 21, 21 (1947). – H. J. BLUNTSCHLI und R. H. GOETZ, Schweiz. med. Wschr. 77, 769 (1947); S. Afr. Med. J. 21, 382 (1947). – E. D. FREIS, J. R. STANTON und R. W. WILKINS, Amer. J. Méd. Sci. 216, 163 (1948). – H. J. BLUNTSCHLI, Helv. med. acta, 15, 417 (1948).

^{2a-c} Siehe S. 46, Note 1.

¹ Versuche an 48 Katzen (Urethannarkose) und an 14 Hunden (Morphinurethannarkose).

5. Wird beim Hund die eine Niere entfernt und die andere Niere an den Hals verlagert, d. h. die Nierenarterie an die linke Karotis und die Nierenvene an die Vena jugularis angeschlossen¹, so werden durch diese Versuchsanordnung die nervösen Beziehungen zwischen Kreislaufsystem und Nierentätigkeit eliminiert. In solchen Versuchen mit *am Hals implantierter Niere* wird nach DHO ebenfalls ein sekundärer Pressoreffekt registriert (Abb. 2c).

Die hier angeführten Versuchsergebnisse zeigen, daß die nach Dihydroergocornin beobachteten sekundären Blutdruckeffekte über einen renalen Mechanismus zustande kommen.

6. Im Versuch mit Organbrei von Katzenriern haben sich bisher keine Anhaltspunkte ergeben, daß das aktive blutdrucksenkende Prinzip von DHO durch die Nieren zerstört wird. Daß die adrenolytische Wirkungskomponente der verschiedenen Dihydroderivate durch die Nierentätigkeit nicht eliminiert wird, geht aus Untersuchungen an der Samenblase des Meerschweinchens hervor².

7. An der Katze mit Rückenmarksquerschnittsläsion im Bereich der thorakalen Segmente dominiert nach DHO entweder ein Depressor- oder ein Pressoreffekt, und zwar je nach der Höhe der Querschnittsdurchtrennung³; je höher diese erfolgt desto ausgesprochenener ist die Blutdrucksteigerung, je tiefer das Rückenmark durchschnitten wird, desto ausgesprochenener die Blutdrucksenkung (Abb. 3).

8. Wird DHO in Zeitintervallen von 20 bis 60 Minuten, nach Rückenmarksquerschnittsdurchtrennung im Bereich der oberen Thorakalsegmente, wiederholt verabreicht, so zeigen die *pressorischen Blutdruckeffekte das Phänomen der Tachyphylaxie*.

Folgerungen

Dihydroergocornin verursacht am *Ganztier* primär eine Blutdrucksenkung, sekundär einen Blutdruckanstieg. – Nach *Ausschaltung der Nierentätigkeit* erfolgt nur ein Depressoreffekt. Nach *Rückenmarksquerschnittsdurchtrennung* im Bereich der oberen Segmente kommt es hingegen einzig zu einem Pressoreffekt.

Die am *Ganztier* auf Infusion i. v. von Dihydroergocornin resultierende Blutdruckänderung ist somit die Resultante zumindest zweier sich gegensinnig beeinflussender Mechanismen. Es ist zu vermuten, daß es sich hierbei um zwei verschiedene Wirkungsprinzipien handelt: ein *Depressorprinzip*, dessen Effekte nur dann zustande kommen, wenn bestimmte nervöse Mechanismen unversehrt sind und ein *Pressorprinzip*, dessen Kreislauffeffekte von der Nierentätigkeit abhängig sind. Aus Versuchen am Hund mit isolierter und am Hals implantierte Niere (Abb. 2c) ergibt sich, daß die *sekundäre und pressorische Blutdruckwirkung nach Dihydroergocornin*, zumindest vorwiegend, über einen humoralen, renal bedingten Mechanismus zustande kommt.

H. J. BLUNTSCHLI und H. STAUB

Medizinische Universitätsklinik, Bürgerspital Basel, den 5. November 1948.

Summary

The present report analyses the blood-pressure action of dihydroergocornine (DHO) in anesthetized animals without artificial hypertension. Experiments are carried

out on intact and nephrectomized animals in cats in which the renal arteries are temporarily clamped, in cats with section of the thoracic spinal cord, and in dogs with grafted kidney. Evidence is presented that the changes in blood-pressure following dihydroergocornin in the intact animal are the result of at least two interacting mechanisms. The one (leading to a depressor effect) is only apparent if certain nervous mechanisms are intact, while the second (leading to a pressor effect) depends on renal function. It is probable that the effects on the circulatory system are produced by different active principles. Experiments in dogs with grafted kidney show that the secondary blood-pressure effect following dihydroergocornine is caused predominantly, to say the least, by means of a humoral mechanism of renal origin.

Beitrag zur Wirkung von Deuteriumoxyd (D₂O) auf das Wachstum

Untersuchungen an Gewebeskulturen von Kaninchenfibrozyten

In den letzten Jahren hat die Isotopentechnik in den verschiedensten Gebieten der Biologie Eingang gefunden. Zur Lösung vieler Fragen wurde wohl am häufigsten die Methode der Markierung mit Deuterium angewendet. Die einfachste Deuteriumverbindung, das Deuteriumoxyd (schweres Wasser), das man schon vielfach zur Untersuchung der Wasserbewegung und für Stoffwechselfragen herbeigezogen hat, wirkt in höheren Konzentrationen schädigend auf das Gewebe ein. Zur Analyse einer solchen Schädigung läßt sich, wie an vielen Beispielen gezeigt werden kann, die Gewebezüchtung mit Erfolg verwenden. Dieses Verfahren, das wir auch für unsere Untersuchungen benützten, erlaubt uns nicht nur eine feinere morphologische Erfassung der toxischen Wirkung, sie gestattet uns auch im Hinblick auf Störungen des Teilungsgeschehens Rückschlüsse auf die Kinetik des Mitosenablaufes.

Für unsere Versuche standen uns zweitägige Deckglaskulturen von Fibrozyten junger Kaninchen aus der 5. bis 8. Passage zur Verfügung. Die Hohlschliffe der Objektträger wurden mit Tyrode-Lösung, die D₂O in entsprechender Konzentration enthielt und auf 38° vorgewärmt worden war, luftblasenfrei ausgefüllt. Um die gewünschte D₂O-Konzentration zu erhalten, wurde ein bestimmter Tyrode-Anteil eingedunstet, der Rückstand in 100% D₂O¹ aufgenommen und mit Normal-Tyrode entsprechend verdünnt. Zu berücksichtigen ist, daß das Eindunsten einer Tyrode-Lösung ihr p_H nach der alkalischen Seite hin verschiebt. Durch Neueinstellung des p_H läßt sich diese Verschiebung kompensieren. Wesentliches Pufferungsverluste treten dabei nicht auf. Da ferner das Ionenprodukt von D₂O 5,43mal kleiner ist als dasjenige von H₂O², ergibt sich daraus eine Änderung aller Dissoziationskonstanten in D₂O-H₂O-Gemischen. Die zur Verfügung stehenden geringen Mengen von D₂O erlaubten uns keine genaueren p_H -Messungen. Doch kann die neue Dissoziationskonstante näherungsweise durch lineare Interpolation zwischen K_H und K_D berechnet werden. In unserem Fall können wir eine maximale p_H -Verschiebung in 100% D₂O von 0,5 Einheiten annehmen.

¹ Das D₂O-Präparat stammt von der Norsk Hydroelektrisk Kvaestofaktieselskab, Oslo. Der D₂O-Gehalt beträgt $100 \pm 0,2\%$. Es ist frei von Schwermetallen, auch in Spuren.

² E. BAMANN und K. MYRBÄCK, *Methoden der Fermentforschung* (1941), S. 1541.

¹ Versuchsanordnung in Anlehnung an die Methode von J. C. FASCIOLLO, B. A. HOUSSAY und A. C. TAQUINI, *J. Physiol.* 94, 281 (1938).

² E. ROTHLIN, *Schweiz. med. Wschr.* 77, 1161 (1947).

³ H. J. BLUNTSCHLI, *Helv. physiol. acta* 6, C 50, (1948).

usgewertet wurde nach dem üblichen Verfahren¹. Im andschleier der lebenden Kulturen wurden alle 2 h die itosen ausgezählt und die Kulturen nach 4 bzw. 9 h iert. Fixation: Krallinger; Färbung: Feulgen, Nach- rbung mit Wasserblau. Im konservierten Präparat be- timmen wir die Phasenprozeentsätze. Die Kombination on Mitosenauszahlung und Phasenbild gewährt uns inblick in den Wachstumsprozeß. Eine endgültige Ent- heidung bringt allerdings erst die Filmanalyse, die in esem Falle noch aussteht.

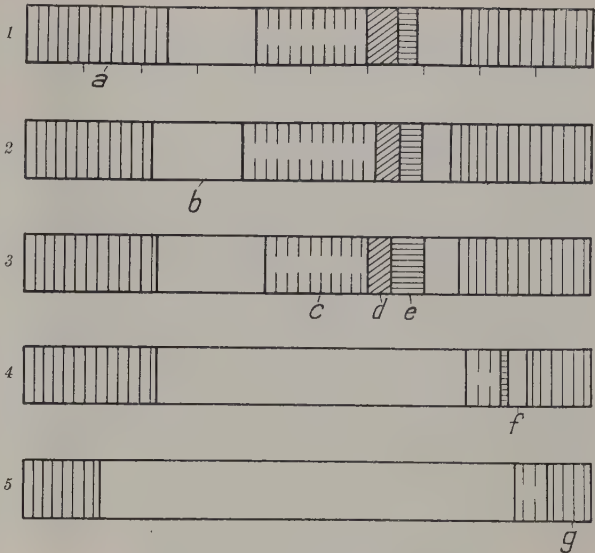
Das Ergebnis der Lebendbeobachtung veranschaulicht ab. I.

Tabelle I

	Anzahl	Durchschnittliche Mitosenzahl in % der Anfangszahl				
		2 h	3,5 h	5,5 h	7,5 h	9,25 h
Normal-Tyrode	18	101	81	101	102	82
25% D ₂ O	9	80	67	87	65	64
33% D ₂ O	10	62	80	70	66	55
50% D ₂ O	10	87	78	110	83	90
75% D ₂ O	9	200	110	148	—	—
100% D ₂ O	4	105	121	—	—	—

D₂O in Konzentrationen von 25 und 33 % bewirkt einen rückgang der beobachtbaren Mitosenzahl, der schon ach 1½ h sichtbar wird, um in der Folge langsam, aber etig zuzunehmen. Betrachten wir die Phasenprozent- sätze (Abbild.), so sehen wir bei 25 % eine nahezu nor- male Verteilung der Mitosestadien. Eine leicht verlän- erte Dauer weist einzig die Äquatorialplatte auf. Diese igt ferner Störungen im Sinne von Chromosomenab- sprengungen in einem Prozentsatz, der die Norm über- schreitet. Die Mitose erscheint in ihrer zeitlichen Abfolge um gestört, dagegen spricht das Sinken der Mitosen- zahl für eine Hemmung des Teilungsbeginns. Bei 33 % 2O tritt ein neues Moment hinzu. Das weitere Absinken er Mitosenzahl zeigt eine Zunahme der Interkinese an. eilzeitig beobachtet man aber im Phasenbild eine erlängerung der Dauer der frühen Metaphase. Der Ab- auf der Mitose erfährt dadurch eine Verzögerung. Mit unahme der D₂O-Konzentration tritt diese Hemmung er Zellteilung immer stärker hervor. Überwiegt die Ab- aufsverzögerung, so beginnen die Mitosenzahlen wieder u steigen. Es kommt zum Mitosenstopp im Stadium der etakinese. Von 75 % D₂O an wird die Auszählung an er lebenden Kultur und die Bestimmung der Phasen- prozeentsätze am fixierten Präparat schwierig. Zahlreiche ellen runden sich ab, ihr Kern wird pyknotisch, das lasma zeigt eigenartige bläschenförmige Fortsätze, wie an sie bei gesteigerter Oberflächenunruhe im Film eht, es nimmt schaumförmige Struktur an und zerfällt hließlich. Das gleiche Bild, noch stärker ausgeprägt, eobachten wir bei 100 % D₂O. Wie viele Rundzellen ortbortive Mitosen darstellen, kann nur die Filmunter- suchung abklären.

Um die Wirkung der eingangs erwähnten p_H -Erhöhung urch D₂O-Zugabe zu überblicken, haben wir eingedun- tete Tyrode-Rückstände in gewöhnlichem Wasser auf- enommen und ohne Neueinstellung des p_H als Kultur- üssigkeit gebraucht. Die p_H -Erhöhung ist unter diesen ümständen stets höher als jene, die in 100 % D₂O erfol- ren kann. Die nach 10 h fixierten Präparate weisen auch ine ausgesprochene Verlängerung der frühen Metaphase uf, die jedoch nie das Ausmaß wie in den Kulturen mit 5 und 100 % D₂O erreicht. Insbesondere sehen wir trotz



1 Normal-Tyrode: 14 Kulturen, 247 Mitosen
2 25% D₂O: 9 Kulturen, 253 Mitosen
3 33% D₂O: 10 Kulturen, 166 Mitosen
4 50% D₂O: 10 Kulturen, 109 Mitosen
5 75% D₂O: 9 Kulturen, 61 Mitosen

a Prophase, b frühe Metaphase, c späte Metaphase, d Anaphase, e frühe Telophase, f späte Telophase, g Rekonstruktionsphase

viel längerer Einwirkungsdauer keine vermehrten Chro- mosomenabsprengungen, keine Pyknosen und Rundzel- len, nie Zerfallserscheinungen im Protoplasma. Zusam- menfassend läßt sich daher feststellen: schwache Kon- zentrationen von D₂O beeinträchtigen das Wachstum in Gewebekulturen durch Senkung des mitotischen Koeff- zienten, bei höherer Konzentration tritt eine Ablaufs- verzögerung der Mitose hinzu, die zu einem Mitosenstopp in der Metakinese führt, wobei dieser Stopp in unsern Versuchen zum Teil wenigstens auf eine p_H -Änderung der Außenflüssigkeit bezogen werden kann. Starke Kon- zentrationen führen zudem zu Rundzellenbildung, Kern- pyknose und Zerfall des Plasmas. Bei allen angewandten Konzentrationen beobachtet man einen gegenüber der Norm erhöhten Prozentsatz von Chromosomenabspre- ngungen in der späten Metaphase (Tab. III).

Tabelle II

	Prozentsatz pathol. Äquatorialplatten
Normal-Tyrode	8,5
25% D ₂ O	21,6
33% D ₂ O	19,3
50% D ₂ O	28,7

V. MÖLLENDORFF¹ hat in eingehenden Untersuchun- gen die Bedeutung des Viskositätswechsels und seiner Regulation für den normalen Ablauf der Mitose darge- legt. Paraplastischer Raum und Arbeitsstruktur der Zelle sind in jeder Phase der Zellteilung Schauplatz von Quellungs- und Entquellungsvorgängen. Fehlleistungen im Angebot von Transportmaterial und seiner Regula- tion haben stets auch eine Änderung des Mitosenablaufs zur Folge. Dabei ist der Effekt oft unspezifisch und kann durch die verschiedensten Stoffe hervorgerufen werden. So werden die Anfangsstadien der Mitose besonders durch Substanzen beeinflusst, die eine Quellung bewir-

¹ W. v. MÖLLENDORFF, Arch. exp. Zellf. 21, 301 (1937).

¹ W. v. MÖLLENDORFF, Z. Zellf. 27, 512 (1937).

ken wie Salze, Alkohol, Hypotonie¹. Andere Stoffe scheinen direkt an der Arbeitsstruktur der Zelle anzugreifen (Colchicin, As).

Für die Deutung unserer Befunde lassen sich nun einige physikalische Eigenschaften von D_2O verwerten. Nach den Angaben von HEVESY und JACOBSON² wird das Zellwasser innerhalb einer halben Stunde ausgetauscht. Die Diffusionskonstante für D_2O ist um etwa 10% kleiner als diejenige für gewöhnliches Wasser, so daß wir annehmen dürfen, daß nach 1 h im Zellinnern die gleiche D_2O -Konzentration herrscht wie in der Außenflüssigkeit. Die abweichenden Eigenschaften von D_2O werden sich vorerst im paraplasmatischen Raum auswirken. Die erhöhte Viskosität wird die Teilungsbereitschaft ungünstig beeinflussen. Es kommt zum frühzeitigen Absinken des mitotischen Koeffizienten. Dabei läuft, wie das Phasenbild von frühzeitig fixierten Kulturen zeigt, die Mitose vorerst normal ab. Erst nach 3–4 h tritt bei starken Konzentrationen der oben erwähnte Zellerfall ein. Der Einbau von D in das Zellfett und in die Struk-

turproteine kann dabei vernachlässigt werden. Dagegen dürfte die Änderung aller Dissoziationskonstanten eine erhebliche Rolle spielen. Durch Sprengung von pH -empfindlichen Haftpunkten, durch Verzögerung oder Beschleunigung einzelner Fermentprozesse¹ wird die Arbeitsstruktur der Zelle in Mitleidenschaft gezogen, reversibel geschädigt und der Zelltod eingeleitet.

B. CAGI

Anatomisches Institut der Universität Zürich, d. 3. Juni 1948.

Summary

The influence of different concentrations of heavy water (D_2O) on cultures of connective tissue of rabbit was studied. Low concentrations cause a lowering of the mitotic coefficient. Medium concentrations have a retarding effect on the rate of mitosis. Higher concentrations lead to the production of round-cells, nuclear pyknosis, and destruction of cells. An attempt is made to explain these effects on the basis of its aberrant physical properties.

¹ W. v. MÖLLENDORFF, Z. Zellf. 28, 35 (1938).

² G. HEVESY und C. F. JACOBSON, Acta phys. Scand. 1, 11 (1940).

¹ E. BAMANN und K. MYRBÄCK, l.c.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Differential- und Integralrechnung

im Hinblick auf ihre Anwendung

Von Prof. Dr. LOUIS LOCHER-ERNST. 594 Seiten, mit 406 Figuren und über 1000 Übungen (Verlag Birkhäuser, Basel 1948) (Fr. 48.—)

An Lehrbüchern der Infinitesimalrechnung bestand vor dem Kriege kein Mangel. Gegenwärtig sind wir weitgehend auf den englisch-amerikanischen Büchermarkt angewiesen. Erfreulicherweise sind in der Schweiz in der letzten Zeit eine Reihe guter Lehrbücher erschienen, deren Zahl nunmehr um ein wertvolles Lehr- und Übungsbuch zur Infinitesimalrechnung und zur analytischen Geometrie von Prof. Dr. LOCHER vermehrt wurde.

Das Werk ist aus einer Gesamtschau entstanden, die sich gegen eine zu weitgehende Zersplitterung wendet und immer wieder auf Zusammenhänge, sei es auch nur in Übungsaufgaben, hinweist. Der geschickte methodische Aufbau läßt den erfahrenen Pädagogen erkennen. Das Buch kann in eine Entwicklung eingereiht werden, die etwa durch F. F. P. BISACRE, *Praktische Infinitesimalrechnung* (1929), (übersetzt von KOENIG), A. WALTHER, *Einführung in die mathematische Behandlung naturwissenschaftlicher Fragen* (1928) und L. KIEPERT, *Grundriß der Differential- und Integralrechnung* gekennzeichnet wird. Dabei nennen wir das Buch von KIEPERT, das zahlreiche Auflagen erlebte und von dem ein bissiger Kritiker geschrieben hat «Die Sätze nähern sich mit wachsender Auflagezahl richtigen Aussagen», nur der darin zum Ausdruck gebrachten Gesamtkonzeption wegen.

Die ersten beiden Kapitel sind den Elementen der analytischen Geometrie gewidmet. Ausführlicher als üblich werden Maßstabfragen berücksichtigt und, dem Vorgehen M. LANDOLTS entsprechend, Größen und Maßzahlen sauberlich unterschieden.

Das dritte Kapitel behandelt den Funktionsbegriff quadratische und kubische Funktionen und bringt die erste Dosis Differential- und Integralrechnung. Anschließend werden Näherungsverfahren zur Auflösung von Gleichungen und die analytische Geometrie des Kreises entwickelt. Das Integral wird durch den Flächeninhalt definiert und daraus die ersten Sätze gewonnen. Besonders sorgfältig wird die Interpolation besprochen, wofür stets die genauen Schranken bestimmt werden; ein Problem, das meistens übergangen wird.

Im vierten Kapitel wird auf das Differenzieren der elementaren Funktionen eingegangen. Hier kommt deutlich zum Ausdruck, daß sich das Buch in erster Linie an Techniker wendet, die vor allen Dingen die Mathematik ihrer Anwendbarkeit wegen studieren. LOCHER verwendet Differentialrechnung, ohne daß diesem Begriff etwas Mystisches haften würde, um dem Praktiker den Übergang zu den Anwendungen zu erleichtern. Obwohl bereits A. WALTHER diesen Weg erfolgreich beschritten hatte, glauben wir doch, daß für die Mathematiker dieser Begriff im Aufbau zweckmäßiger vermieden wird. Wie in allen modernen Lehrbüchern wird dem Mittelwertsatz eine Zentralstellung eingeräumt. Die Konvergenz der binomischen Entwicklung, ein heikles Thema für ein elementares Lehrbuch, wird ausführlich und sorgfältig mit Fehlerabschätzung dargestellt. Die Differentialrechnung von Funktionen mehrerer Veränderlichen wird bis zur Herleitung der Bedingungen für ein Extrema geführt.

Das die Integralrechnung umfassende fünfte Kapitel geht besonders auf die Anwendungen, wie Berechnung von Volumen, Oberflächen, statische und Trägheitsmomente, ein. Harmonische Analyse, trigonometrische Interpolation, Fourier-Entwicklung und Schemata zur Analyse empirischer Funktionen werden für die meisten Zwecke mit hinreichender Ausführlichkeit erklärt.

Die Theorie der Kegelschnitte und die Differentialgeometrie ebener Kurven machen das sechste Kapitel aus. Den Abschluß bildet eine Einführung in die kinematische Geometrie, die bis zur Euler-Savaryschen Konstruktion geht.

Der letzte Abschnitt endlich bringt eine knappe Einführung in die Elemente der Differentialgleichungen, wo wiederum die praktischen Probleme der Schwingung, der Resonanz und der Dämpfung ihre Darstellung finden.

Einen besonders wertvollen Schatz bereitet der Autor in den 1007 Übungen vor dem Leser aus.

Das Buch ist vom Verlag auf das schönste ausgestattet worden. Wie sehr LOCHER die Anschaulichkeit am Herzen liegt, zeigen die zahlreichen hervorragend entworfenen und ausgeführten Zeichnungen.

Die historischen Bemerkungen sind von Dr. FLECKENSTEIN mit großer Sachkenntnis betreut worden. Der Druckfehlerteufel ließ EULER am 17. statt am 18. September 1763 und NEWTON gar schon 1726 statt am 31. März 1727 sterben.

Wir möchten jedem Mathematikstudenten oder Techniker angelegentlich empfehlen, dieses reiche Übungsmaterial durcharbeiten, denn Mathematik wird nicht erlesen, sondern muß durch selbständige Arbeit erworben werden.

P. BUCHNER

Introduction to Theoretical Physics

By LEIGH PAGE, Ph. D. 662 pp., 210 figs.

(D. van Nostrand Company, Inc., New York, 1935; 2nd edition, 10th impression, 1947) (\$ 7.— or 36s.)

Il ne s'agit pas d'un ouvrage nouveau, mais bien de la 2^e édition du livre de physique théorique de M. PAGE. A l'intention de ceux qui, par suite de la guerre, ignorent l'existence de cette *Introduction*, nous allons en souligner brièvement les caractéristiques.

Précisons d'abord que c'est une introduction à la physique théorique classique: la théorie de la relativité restreinte et la mécanique quantique n'y sont mentionnées que dans leurs principes fondamentaux. Par contre, les théories de la physique classique dont la maîtrise est si nécessaire à qui veut travailler les théories actuelles, y sont exposées très complètement avec un réel souci pour la compréhension du débutant: c'est ce souci qui conduit, semble-t-il, l'auteur à développer l'électromagnétisme à partir des lois de COULOMB, d'AMPÈRE et de FARADAY. Ce parti, qui consiste à fonder l'exposé sur les expériences premières, nous fait penser que le livre de M. PAGE est d'avantage destiné à de futurs expérimentateurs qu'à des théoriciens. Une autre raison à cette opinion se trouve dans le fait que l'ouvrage donne les principes de nombreux dispositifs fondamentaux du laboratoire, comme les galvanomètres, les interféromètres et d'autres encore.

Nous nous en voudrions de ne pas insister sur deux avantages précieux de cette *Introduction*, avantages qui trop souvent font défaut dans les ouvrages du même genre écrits en langue française. Premièrement, un ensemble de 198 problèmes, judicieusement distribués dans le texte (et non groupés dans quelque indigeste appendice); en deuxième lieu une liste de références en queue de chaque chapitre permettant la consultation quelquefois nécessaire des ouvrages spéciaux.

En conclusion, nous dirons que l'*Introduction to Theoretical Physics* de M. PAGE est un de ces livres dont on ne peut affirmer si c'est au professeur ou à l'étudiant qu'ils rendent le plus grand service.

D. RIVIER

Carotinoide

VON P. KARRER UND E. JUCKER

(Verlag Birkhäuser, Basel 1948)

Es braucht nicht betont zu werden, daß Prof. P. KARRER wie kein anderer berufen war, den gegenwärtigen Stand der Carotinoidforschung darzustellen; in Gemeinschaft mit seinem auf diesem Gebiet sehr erfahrenen wissenschaftlichen Mitarbeiter E. JUCKER hat er mit der vorliegenden nahezu 400 Seiten starken Monographie ein Meisterwerk, wenn nicht zum Abschluß – das Gebiet ist noch reich an Problemen –, so doch zu einer Abrundung gebracht, für das ihm alle, in deren Interessenkreis die Carotinoide eingehen, aufrichtig dankbar sein werden.

Seitdem, vor 14 Jahren, das sehr verdienstvolle Buch von L. ZECHMEISTER erschien, sind die Fortschritte der Carotinoidforschung in solchem Grad und in solchem Tempo gewachsen, daß ein wirkliches Bedürfnis nach einer neuen Sammlung und Sichtung der Literatur vorlag.

Der Umstand, daß ein so großer Teil der neuen Carotinoidliteratur vom Verfasser selbst und von der Züricher Schule ausging, macht die vorliegende Monographie besonders wertvoll. P. KARRER hat mit der Konstitutionsaufklärung des Carotins, des Lycopins, des Zeaxanthins und des Xanthophylls in den Jahren 1928–33 die neue Periode der Carotinoidforschung eingeleitet und seither an der Erweiterung und Vertiefung dieses Wissensgebietes durch neue Entdeckungen – es sei nur an die Isolierung und Synthese der Carotinoid-epoxyde erinnert – ununterbrochen und systematisch gearbeitet. Er hat selbst die wesentlichen Richtlinien der Forschung gegeben und kennt die Entwicklung der Probleme.

Die reiche Erfahrung und die Vertrautheit der Verfasser mit ihrer Materie macht sich in jedem Kapitel bemerkbar, besonders vielleicht in den Abschnitten I und VI des allgemeinen Teils. Wir finden im Abschnitt I die wichtigsten Daten über Nachweis und Bestimmung der Carotinoide, über Farbreaktionen, Spektroskopie und Kolorimetrie kritisch zusammengestellt. Im Abschnitt III ist die kurze Beschreibung der chromatographischen Methodik bemerkenswert, und in Abschnitt VI kennzeichnet KARRER Methoden der Konstitutionsermittlung, die er mit so großem Erfolg selbst verwendet hat.

Abschnitt IX enthält die Ergebnisse über die Verbreitung der Carotinoide in der Natur. Hier wie im speziellen Teil des Buches, welcher die einzelnen Carotinoide beschreibt, verdient die außerordentlich gründliche Durcharbeitung der vorliegenden Tatsachen und ihre übersichtliche Anordnung in zahlreichen Tabellen besondere Erwähnung. Der Referent kennt ganz wenige Monographien, in welchen die Anordnung eines großen Zahlenmaterials in Tabellen so gründlich durchdacht und so glücklich durchgeführt ist wie in derjenigen von KARRER und JUCKER. Die offenbar große Arbeit, welche die Autoren hierauf verwendet haben, wird sich bei jeglicher Verwendung des Buches, besonders als Nachschlagewerk und als Ratgeber im Laboratorium, reichlich lohnen.

Es würde zu weit führen, den speziellen Teil, der etwa 270 Seiten umfaßt, im einzelnen zu besprechen; es mag nur nochmals auf die in chemischer wie biologischer Hinsicht so interessanten Carotinoid-epoxyde hingewiesen werden. Die Fülle der Zitate im Text und in den Tabellen macht es augenscheinlich, wie enorm das Gebiet der Carotinoide im letzten Jahrzehnt gewachsen ist.

Die Objektivität, welche die Autoren bei der Auswahl dieser Zitate haben walten lassen, darf nicht unerwähnt bleiben.

Für die schönen und instruktiven Farbentafeln, welche die Carotinoidkristalle veranschaulichen, sowie für die zahlreichen, gut ausgeführten Abbildungen am Schluß des Buches verdient wohl ganz besonders der Verlag vollste Anerkennung. Die Ausstattung des Buches ist in jeder Hinsicht des Inhalts würdig.

HANS V. EULER

Volumetric Analysis

Volume II. Titration Methods: Acid-Base, Precipitation, and Complex-Formation Reactions.

By I. M. KOLTHOFF and V. A. STENGER. 374 p.
(Interscience Publishers, Inc., New York, 1947).

Die Praxis der Maßanalyse von KOLTHOFF und MENZEL, 1928 in deutscher Sprache herausgegeben, ist ein Standardwerk der analytischen Chemie. *Volumetric Analysis*, die in drei Bänden erscheinen wird, ist eine

neubearbeitete Auflage dieses Werkes. Im ersten Band (1942) haben die Verfasser die theoretischen Grundlagen der Maßanalyse behandelt. Der vorliegende zweite Band bringt eine Darstellung der maßanalytischen Methoden, mit Ausnahme der auf Oxydoreduktionen beruhenden Verfahren, deren Wiedergabe dem dritten Bande vorbehalten bleibt. In die allgemeinen Voraussetzungen maßanalytischen Arbeitens - Handhabung volumetrischer Geräte, Bereitung von Standardlösungen usw. - führen die ersten beiden Kapitel ein. Fünf Kapitel sind den auf Säure/Basen-Reaktionen, die letzten drei den auf Fällungs- und Komplexbildungsreaktionen gegründeten Methoden gewidmet. In diesem Rahmen wird die maßanalytische Bestimmung sowohl von anorganischen als auch von organischen Substanzen behandelt. Einige Anwendungen zur Untersuchung technischer Produkte werden berücksichtigt. Es wird eine sorgfältige Auswahl von Methoden geboten, deren «Prinzip» erläutert und zu deren Leistungsfähigkeit in kritischer Weise Stellung genommen wird. Zahlreiche Literaturangaben ergänzen die prägnante Darstellung, die dem Motto «The theory guides, the experiment decides» folgt.

H. SULLMAN

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

FRANCE

VIII^e Congrès de chimie biologique
(Paris, du 6 au 8 octobre 1948)

Le VIII^e Congrès de la Société de chimie biologique qui a réuni à Paris du 6 au 8 octobre 1948, plus de 500 congressistes, dont environ 150 étrangers, a connu un grand succès, pour lequel il convient de féliciter le Comité d'organisation, animé par les Professeurs R. WURMSER, R. FABRE et J. COURTOIS.

Des rapports détaillés furent présentés par A. STOLL, Bâle (*Revue de quelques problèmes de chimie biologique végétale d'intérêt médical*), CL. FROMAGEOT, Paris (*Le lysozyme*), E. C. DODDS, Londres (*Substances cancérogènes et anti-cancérigènes*), D. W. WOOLLEY, New-York (*La strépogénine*), M. JANOT, Paris (*Récentes acquisitions dans la chimie des alcaloïdes*), A. HOREAU, Paris (*Substances œstrogènes de synthèse*), J. CHEYMOL, Paris (*Les androgènes*), H. THEORELL, Stockholm (*Sur la constitution et la fonction de quelques enzymes hématiniques*). Plusieurs de ces exposés contenaient des résultats de recherches encore inédits.

Une centaine de communications originales furent présentées dans les diverses sections (chimie végétale, protéines et enzymes, vitamines et hormones, métabolisme, analyse, cytochimie et pharmacologie). Ces communications, limitées à dix minutes étaient souvent

suivies de discussions animées. Leur texte sera publié au début de 1949 dans le Bulletin de la Société de chimie biologique.

Les congressistes ont été reçus à l'Hôtel de Ville, et à l'Elysée par le Président de la République; un banquet de clôture a réuni de nombreux participants, à la Cité Universitaire. De nombreuses visites d'usines de la région parisienne ont contribué à augmenter l'intérêt de ce Congrès.

Nous relevons avec plaisir le compte rendu très élogieux de ce Congrès paru récemment dans «*Industrial and Engineering News*» (1948), p. 3430, et où il est dit entre autres: «Private luncheons and dinner were held each day, with a show of hospitality described as astounding to anyone familiar with the difficulties faced by professionals of moderate means in Paris to-day». Ce Congrès a permis de fréquents contacts, utiles et agréables, entre biochimistes de diverses nations et a par là-même, servi le progrès de la Science.

E. LEDERER

Corrigendum

Exper. 4, Fasc. 11, p. 452, Zeile 19/20 von unten:
Statt Universalinstrument von Wild (Heerbrugg) muß es heißen:
«Universalinstrument von Kern AG. (Aarau).»

VASODILATATEUR
ACTIF PAR VOIE BUCCALE

DILVASÈNE

(2249 F)

IODOMÉTHYLATE DU 4-DIMÉTHYLAMINO-1-MÉTHYLÈNE-DIOXY-2-3 PROPANE

MALADIE DE RAYNAUD
ACROCYANOSE · ENGELURES
ARTÉRITES
DES MEMBRES INFÉRIEURS
ESCARRES · SCLÉRODERMIE
ŒDÈME AIGU DU POU MON
TACHYCARDIE PAROXYSTIQUE

COMPRIMÉS DOSÉS A 0,05 (Tubes de 20) AMPOULES DE 2cm³ DOSÉES A 0,005 (Boîtes de 10)

DOSE ACTIVE : 2 à 6 comprimés par jour

EN CAS D'URGENCE : 1 à 2 ampoules par voie intramusculaire

SOCIÉTÉ PARISIENNE
D'EXPANSION CHIMIQUE

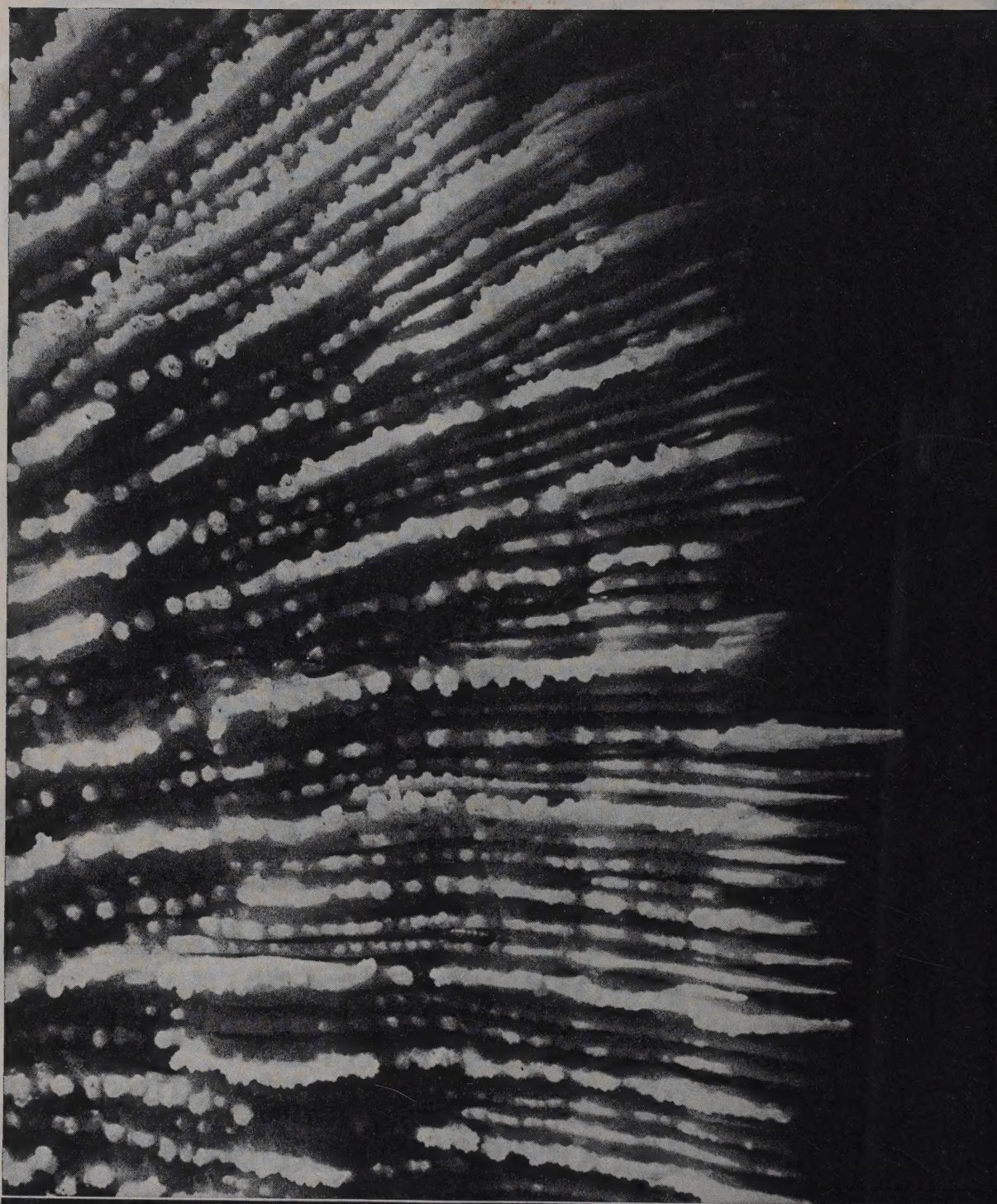


RHÔNE

POULENC

PARIS

21, RUE JEAN GOUJON - 8^e - TÉL. BALZAC : 22-94



CLICHES **S** **TEINER+CO. BASEL**
SCHÜTZENMATTSTRASSE 31 TEL. 49910